

O scurtă introducere în biochimie

**Cristina Bischin
Violeta-Florina Scurtu
Daniela Cioloboc
Radu Ghinga
Radu Silaghi-Dumitrescu**

Presa Universitară Clujeană

**CRISTINA BISCHIN, VIOLETA-FLORINA SCURTU, DANIELA CIOLOBOC,
RADU GHINGA, RADU SILAGHI-DUMITRESCU**

O SCURTĂ INTRODUCERE ÎN BIOCHIMIE

Volumul se adresează celor interesați de câteva detalii introductive despre biochimie și despre implicațiile ei în viața de zi cu zi. Autorii presupun câteva cunoștințe de bază în chimie, fizică și biologie, astfel încât textul să fie utilizabil pentru publicul non-specialist în biochimie, inclusiv studenți ai unor specializări non-biochimice (de exemplu Sport, sau Fizică). Pe de altă parte, prin anexele de la final, textul oferă cu titlu opțional și aspecte semnificativ mai detaliate din punct de vedere chimic, pentru cititorii pentru care acestea ar fi un punct de interes. În calitate de foști studenți ai dânsului, autorii dedică volumul Prof. Dr. Ing. Florin-Dan Irimie, creator al unei „școli” de biochimie în cadrul Facultății de Chimie și Inginerie Chimică a Universității „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca.

**CRISTINA BISCHIN, VIOLETA-FLORINA SCURTU,
DANIELA CIOLOBOC,
RADU GHINGA, RADU SILAGHI-DUMITRESCU**

**O SCURTĂ INTRODUCERE
ÎN BIOCHIMIE**

PRESA UNIVERSITARĂ CLUJEANĂ

2015

ISBN 978-973-595-817-6

© 2015 Autorii volumului. Toate drepturile rezervate. Reproducerea integrală sau parțială a textului, prin orice mijloace, fără acordul autorilor, este interzisă și se pedepsește conform legii.

Universitatea Babeș-Bolyai
Presa Universitară Clujeană
Director: Codruța Săcelean
Str. Hasdeu, nr. 51
400371 Cluj-Napoca, România
Tel./fax: (+40)-264-597.401
E-mail: editura@editura.ubbcluj.ro
<http://www.editura.ubbcluj.ro/>

Cuprins

1. Introducere	7
2. Glucidele (zaharidele)	9
2.1. Monozaharidele	9
2.2. Oligozaharidele	10
2.3. Polizaharidele	10
2.4. Glicoconjugatii: proteoglicani, glicoproteine și glicolipide	12
3. Lipidele	13
3.1. Acizii grași	13
3.2. Acilglicerolii (gliceride, sau grăsimi)	14
3.3. Glicerofosfolipide și compuși înrudiți	15
3.4. Ceridele	16
3.5. Terpenele	16
3.6. Steridele (Izoprenoidele)	16
3.7. Eicosanoidele	17
3.8. Membranele	17
4. Proteinele și aminoacizii	19
4.1. Aminoacizii	19
4.2. Structura proteinelor	19
4.3. Enzime	20
5. Acizii nucleici	21
5.1. ADN	22
5.2. ARN	24
6. Metabolismul	25
6.1. Catabolismul	25
6.1.1. Glicoliza	26
6.1.2. Ciclul Krebs (ciclul acizilor tricarboxilici, ciclul acidului citric)	26
6.1.3. Lanțul transportor de electroni și fosforilarea oxidativă	27
6.1.4. Calea pentozo-fosfaților și alte căi ale metabolizării hexozelor	28
6.1.5. Catabolismul acizilor grași	28
6.1.6. Catabolismul proteinelor	29
6.1.7. Degradarea aminoacizilor	29

6.2.	Anabolismul.....	29
6.2.1.	Gluconeogeneza	29
6.2.2.	Biosinteza lipidelor	30
6.2.3.	Sinteza aminoacizilor	30
6.2.4.	Fotosinteza	31
7.	Aspecte de nutriție.....	32
8.	Sistemul imunitar	37
8.1.	Anticorpii (imunoglobulinele).....	37
8.2.	Celulele sistemului imunitar	38
8.3.	Vaccinurile și imunitatea	39
9.	Enzimologie clinică.....	40
9.1.	Proteine serice.....	40
9.2.	Enzime implicate în patologia cardiacă.....	40
9.3.	Analize în explorarea ficatului	41
9.4.	Enzime implicate în patologia pancreasului	42
9.5.	Analize exploratorii ale funcției renale	42
9.6.	Alte enzime cu relevanță clinică.....	43
10.	Dopajul și substanțele interzise	44
10.1.	Substanțe interzise atât în timpul cât și în afara competițiilor	44
10.1.1.	Substanțe farmacologice care nu sunt aprobate pentru uz uman terapeutic	44
10.1.2.	Agenti anabolizanți.....	44
10.1.3.	Hormoni peptidici, factori de creștere, și substanțe înrudite cu acestea.....	45
10.1.4.	Agoniști beta.....	45
10.1.5.	Hormoni și modulatori metabolici (alții decât hormonii peptidici).....	45
10.1.6.	Agenti diuretici, și alți agenți de mascare.....	45
10.2.	Proceduri interzise atât în timpul cât și în afara competițiilor	45
10.2.1.	Mărirea artificială a capacității de transport a oxigenului	45
10.2.2.	Manipularea fizică sau chimică	45
10.2.3.	Dopajul genetic.....	45
10.3.	Substanțe interzise doar pe parcursul competițiilor	46
10.3.1.	Agenti stimulanți	46
10.3.2.	Narcoticele.....	46
10.3.3.	Canabinoidele	46
10.3.4.	Glucocorticosteroizii	46
10.4.	Substanțe interzise selectiv, doar în anumite sporturi.....	46
11.	Anexe	47

1. Introducere

Biochimia se ocupă cu structura moleculelor din sistemele vii și cu procesele în care aceste molecule sunt implicate. La intersecția dintre biologie, chimie și fizică, ea detaliază modurile în care organismele vii obțin energie pentru a se hrăni, își transmit trăsăturile către urmași (ereditatea), sunt supuse bolilor, etc.

În alimentație, biochimia este folosită printre altele în scopul găsirii unor surse de nutrienți mai abundente și ieftine, în determinarea compoziției chimice a alimentelor, în dezvoltarea unor procedee de reciclare a nutrienților din unele deșeuri sau inventarea unor căi de prelungire a timpului de viață al produselor alimentare. În agricultură, biochimistii studiază interacțiunea erbicidelor cu plantele, analizând relația dintre structura și activitatea compușilor, determinând abilitatea lor de a inhiba creșterea și evaluând efectul toxic al mediului înconjurător. De asemenea, biochimia își găsește o importanță aplicativă în domenii ca farmacologia, fiziologia, microbiologia, chimia clinică. În aceste domenii, biochimistii pot investiga mecanismul de acțiune al medicamentelor sau utilizează concepte, metode și tehnici chimice pentru studiul diagnozei și a terapiei bolilor, precum și al evaluării sănătății. Cum pot compușii organici din organism să fie transformați de către enzime în produși toxici, sau cum pot poluanții din mediul exterior să afecteze sănătatea, este un alt domeniu de interes al biochimiei medicale, mai exact al toxicologiei. În știința sportului, biochimia contribuie la înțelegerea proceselor de alimentație, a celor implicate în efortul fizic, dar și a dopajului.

Caracteristicile organismelor vii, care le diferențiază fundamental de alte sisteme, sunt:

1. Capacitatea de *reproducere și de autoasamblare*. O singură celulă bacteriană plasată într-un mediu steril cu nutrienți este capabilă să producă miliarde de celule identice, în 24 de ore. Fiecare celulă conține mii de molecule, unele extrem de complexe; fiecare celulă este o copie fidelă a celei din care provine, construcția sa fiind dictată de informații preluate de la celula originală.
2. Sistemele pentru *extragerea, transformarea și utilizarea energiei din mediul înconjurător* permit organismelor să-și construiască și să-și mențină propria structura și să se angajeze în activități mecanice, chimice, și electrice.
3. Mecanisme de *adaptare* la noi condiții din mediu.
4. Un *grad ridicat de complexitate* chimică și organizare microscopică. Celula este alcătuită din mii de molecule diferite. Între ele, *fiecare subsistem are o funcție*, iar între acestea există o strânsă conexiune.

Compoziția organismelor vii: circa 30 de elemente chimice sunt esențiale organismelor vii. Carbonul, hidrogenul, oxigenul și azotul constituie împreună mai mult de 99% din masa celulei, și sunt numite de aceea „elemente esențiale majore”. Aceste elemente pot forma legături chimice puternice. Restul de 1% din masa celulei este datorat unor elemente care din cauza concentrației mai mici sunt numite și „esențiale în urme” sau „oligoelemente”. De exemplu, hemoglobina, proteina transportatoare de oxigen din sângele multor organisme superioare, este absolut dependentă de fier. Cu, Zn, Co, Na, K, Mg, Ca, sunt alte câteva exemple de metale de o importanță vitală.

Un rol important în alcătuirea moleculelor biologice îl are carbonul. El poate forma legături simple cu atomi de hidrogen, legături duble sau simple cu atomi de oxigen sau azot, etc.

De o importanță covârșitoare în biologie este capacitatea unui atom de carbon de a se lega covalent de un alt atom de carbon prin legături simple, duble sau triple, formând structuri stabile. În acest fel se formează structurile chimice care constituie scheletul moleculelor importante din biologie, pe care sunt apoi grefate alte diferite grupări de atomi, numite grupări funcționale, care conferă proprietăți chimice specifice fiecărei molecule. Niciun alt element nu poate forma, asemenea carbonului, molecule atât de variate ca dimensiune, formă și diversitate de grupări funcționale.

Din punct de vedere al compoziției chimice, toate organismele conțin șase clase de substanțe: proteine, glucide, lipide, acizi nucleici, vitamine, și ioni metalici – la care se adaugă apa (vezi Anexa 1).

Interacțiuni **chimice în organismele vii**: în afara legăturilor covalente, între molecule apar și unele forțe mai slabe, de atracție sau repulsie, cunoscute sub denumirea de legături necovalente. Din categoria acestora fac parte legăturile van der Waals, ionice și de hidrogen. Ele diferă în geometrie, tărie și specificitate. Fiecare dintre acestea are o contribuție semnificativă la structura, stabilitatea și funcționalitatea macromoleculelor.

Un alt tip de interacțiuni des întâlnite în biochimie sunt interacțiunile hidrofobe. Acestea apar ca urmare a tendinței moleculelor hidrofobe de a se împacheta și/sau auto-asocia pentru a minimiza energia nefavorabilă interacțiunii cu apa.

Fenomene ca replicarea ADN-ului, împachetarea proteinelor în structuri tridimensionale, recunoașterea enzimă-substrat sau detectarea moleculelor semnal sunt dependente de aceste forțe slabe, care sunt afectate într-o măsură foarte mare și de prezența apei.

Celula: toate organismele vii cunoscute de noi până azi sunt formate din *celule*. O celulă, în sensul biologic, are trei componente: o *membrană* care îi delimitează marginile, conținutul apos (*citoplasma*) delimitat de această membrană și *nucleul* aflat în mijlocul citosolului:

- *Membrana* celulei are rolul de a delimita spațiul celular și de a separa conținutul acestuia de exterior; datorită structurii sale impermeabile la apă („hidrofobă”), ea permite trecerea *controlată* a unor compuși încărcăți electric. Unele componente inserate în membrane îndeplinesc apoi roluri diverse - transportor, receptor, catalizator, semnalizator, mișcare, și altele. Datorită faptului că moleculele din constituția membranei nu sunt legate între ele prin legături chimice puternice, întreaga structură este flexibilă, permițând schimbări în formă și mărime.
- *Citoplasma*, conținutul celulei, este compusă dintr-o soluție apoasă, citosolul, în care se găsesc alte multe particule cu funcții specifice. Citosolul este o soluție foarte concentrată în substanțe chimice - proteine, glucide, acizi nucleici, vitamine, dar și sute de molecule mici numite metaboliți, rezultate în căile de sinteză și de degradare.
- *Nucleul*: depozitează în molecula numită ADN (acid deoxiribonucleic) informația esențială funcționării celulei („informația genetică”).

pH-ul în organismele vii: pH-ul afectează structura și funcția biomoleculelor, activitatea catalitică a enzimelor, prin urmare, schimbările de pH pot fi distructive metabolismului. Organismele posedă o varietate de mecanisme prin care pH-ul intra și extracelular este păstrat constant (pentru detalii vezi Anexa 1).

2. Glucidele (zaharidele)

Cele mai abundente molecule de proveniență biologică întâlnite în natură sunt glucidele, cunoscute și sub numele de zaharuri, carbohidrați, sau hidrați de carbon - datorită *formulei moleculare de bază* $(CH_2O)_n$, unde $n \geq 3$. În general, denumirile compușilor care fac parte din această clasă poartă terminația „-oză”. În organismele vii, glucidele servesc drept sursă de energie, rezervă de energie, material de rezistență mecanică (structural), componente ale unor sisteme mai complexe (ca acizii nucleici sau vitaminele), elemente de recunoaștere („etichete” pentru celule), elemente de adeziune între celule și intermediari metabolici, și altele.

Glucidele se împart în trei categorii: **monozaharide, oligozaharide și polizaharide**. O a patra categorie sunt compușii în care glucidele participă alături de alte substanțe.

2.1. Monozaharidele

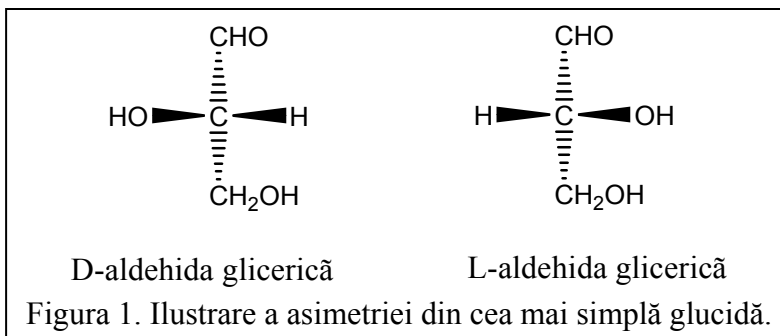
Monozaharidele sunt cele mai simple glucide; ele conțin între 3 și 7 atomi de carbon, conectați între ei într-o structură liniară. Atomii de oxigen din compoziția monozaharidelor se regăsesc sub formă de grupări $-OH$ (hidroxil), câte unul per atom de carbon, cu excepția unui oxigen per glucidă care apare sub formă de grupare $=O$ (carbonil). Gruparea carbonil se poate găsi fie la primul atom de carbon din structură (caz în care acea glucidă este numită aldază, din cauza similarității cu compușii organici numiți aldehide), fie la al doilea atom de carbon din structură (caz în care vorbim de cetoze datorită similarității cu compușii organici numiți cetone). Mai multe detalii sunt prezentate în Anexa 2.

Izomeria optică:

Structurile care au aceeași formulă moleculară dar diferă prin organizarea internă a atomilor sunt numite izomeri. Monozaharidele în general prezintă unul sau mai mulți atomi de carbon în jurul cărora cele patru legături sunt formate cu patru atomi sau grupuri de

atomi diferiți între ei. Acei atomi de carbon sunt asimetrici (se folosește și termenul de „chiral”). Pentru aldehida glicerică (Figura 1) se observă că, din cauza acestei asimetrii, atomii pot fi aranjați în două feluri diferite, rezultând două structuri chimic diferite notate cu D și L (a se vedea Anexa 2 pentru regulile după care se fac aceste notații), care au proprietatea de a fi, una față de cealaltă, imagini în oglindă.

În structura glucozei din Figura 2 se poate observa că 4 dintre atomii de carbon din interiorul lanțului au fiecare câte 4 vecini diferiți. Moleculele cu patru sau mai mulți atomi de carbon au așadar mai mulți centri chirali. Ele primesc eticheta D sau L în funcție de poziția grupării $-OH$ de la atomul de carbon chiral aflat la cea mai mare distanță de gruparea carbonil (pentru detalii vezi Anexa 2). Este de notat că aproape toate glucidele întâlnite în organismele vii sunt de tip D, deși, din punct de vedere al reactivității chimice, izomerul L nu este mai puțin stabil sau foarte diferit. Motivul pentru care, și mai ales modul în care dintre cei doi izomeri optici organismele primitive au reușit să selecteze unul singur, sunt încă o parte a incomplet elucidatului mecanism prin care ar fi apărut viața pe planeta noastră.



Structuri ciclice: În soluții apoase, monozaharidele au tendința de a renunța la structura lor liniară și de a forma cicluri, așa cum se ilustrează în cazul glucozei în Figura 2 (pentru detalii vezi Anexa 2).

2.2. Oligozaharidele

Oligozaharidele sunt compuși formați din lanțuri de 2-10 monozaharide unite între ele prin legături chimice. Cel mai cunoscut reprezentant al oligozaharidelor este zaharoza (sau sucroza, sau zahărul de bucătărie) care este o dizaharidă formată prin legarea unei molecule de glucoză de una de fructoză:

Deși în natură se găsesc o varietate de oligo- și polizaharide, la baza formării acestora sunt în general doar câteva monozaharide: glucoza, fructoza, manoză, galactoză, riboză și xiloza.

Maltoza este o diglucidă alcătuită doar din glucoză (formele α și β ilustrate în Figura 2) și este rezultatul descompunerii amidonului (a se vedea mai jos) de către enzime numite amilaze (notăm aici că „enzimele” sunt substanțe care catalizează reacțiile chimice din organismele vii și că numele lor are de obicei terminația specifică „-ază”). **Lactoza** este principala glucidă din lapte; este o diglucidă formată din galactoză și glucoză.

Stahioza este o oligoglucidă din fasole, mazăre, țărâțe și grâu. Ea nu este digerată de enzimele stomacale, însă poate fi degradată de bacteriile intestinale, provocând flatulență prin gazele degajate de ele.

Oligozaharidele intră și în compoziția unor antibiotice, cum este streptomicina, sau cum este și bleomicina folosită la tratarea unor tipuri de tumori.

2.3. Polizaharidele

Polizaharidele sunt compuși obținuți prin polimerizarea monozaharidelor, prin legături similare celor din oligozaharide. Cea mai comună monozaharidă utilă în acest sens este D-glucoza. Polizaharidele diferă între ele prin tipul monozaharidei din alcătuirea lor, dar și prin lungimea lanțului polimeric, modul de ramificare al acestuia și rolul îndeplinit în organismele vii – și anume rol **energetic** („poliglucide de rezervă”) sau rol **structural**.

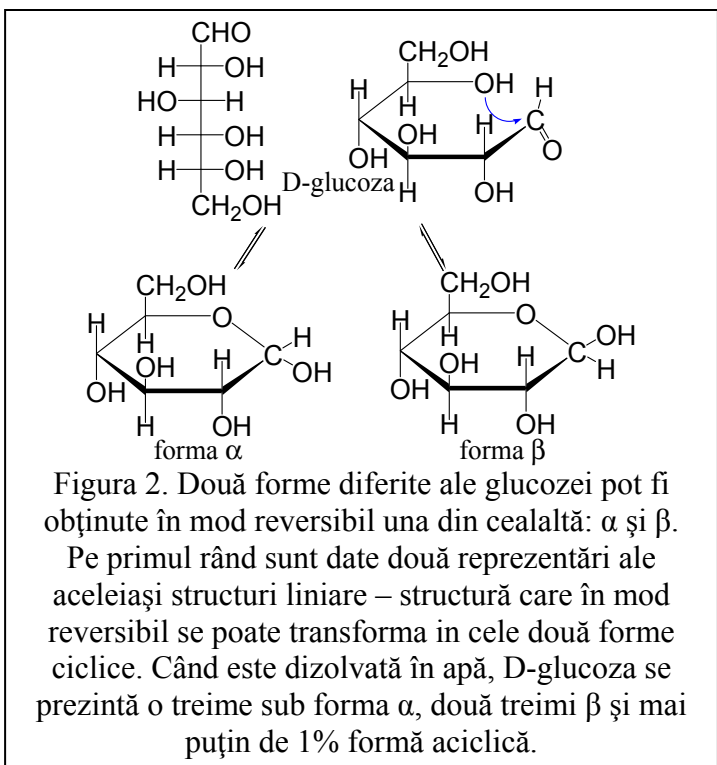


Figura 2. Două forme diferite ale glucozei pot fi obținute în mod reversibil una din cealaltă: α și β . Pe primul rând sunt date două reprezentări ale aceleiași structuri liniare – structură care în mod reversibil se poate transforma în cele două forme ciclice. Când este dizolvată în apă, D-glucoza se prezintă o treime sub forma α , două treimi β și mai puțin de 1% formă aciclică.

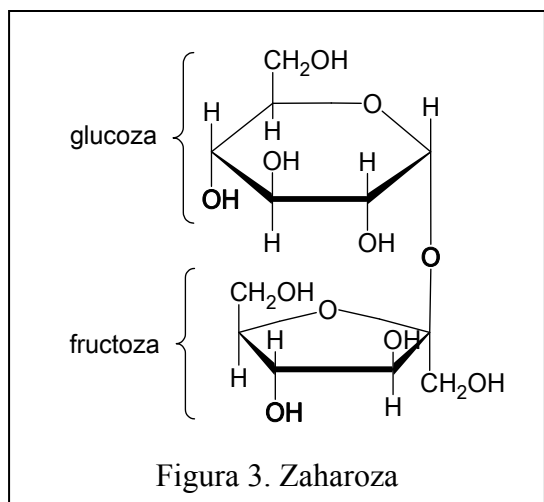


Figura 3. Zaharoza

Cele mai importante polizaharide cu rol energetic sunt **amidonul** (din plante) și **glicogenul** (din animale și ciuperci) iar principala polizaharidă cu rol structural este **celuloza**.

Amidonul este de fapt un amestec de doi polimeri similari între ei, ambii formați din glucoză: amiloza (un polimer liniar) și amilopectina (un polimer ramificat). În organismul nostru, atunci când consumăm amidon, digestia sa începe în cavitatea bucală, sub acțiunea enzimei numite amilază; o amilază se găsește apoi și la nivelul intestinului, adusă de suc pancreatic.

Glicogenul, principala rezervă energetică de la animale, este, la fel ca amilopectina, un polimer ramificat pe bază de glucoză – însă este mai compact decât aceasta. Este abundent în ficat și mușchii scheletici, unde poate fi supus clivării de către amilaze și glicogen fosforilaze, eliberând în cele din urmă glucoză.

Celuloza este o polizaharidă cu rol structural, are o moleculă liniară formată din glucoză; moleculele sale formează fibre foarte lungi, aliniate în paralel una cu alta și conectate prin rețele foarte extinse de interacțiuni slabe implicând câte un hidrogen plasat între doi atomi de oxigen (legături de hidrogen, a se vedea Anexa 1 și Figurile 4 și 5).

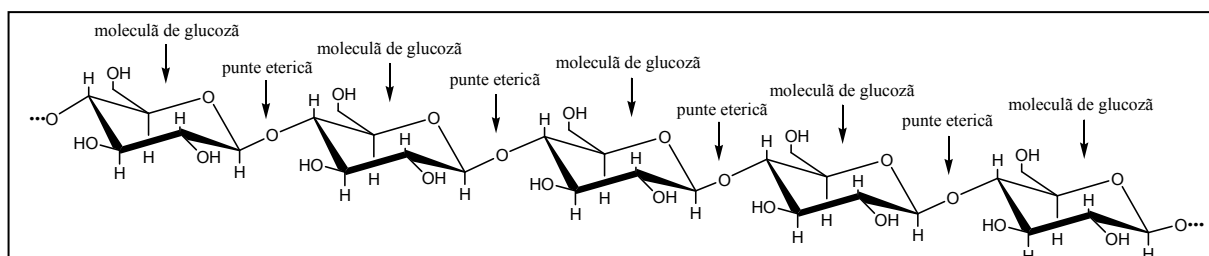


Figura 4. Alcătuirea fibrei de celuloză

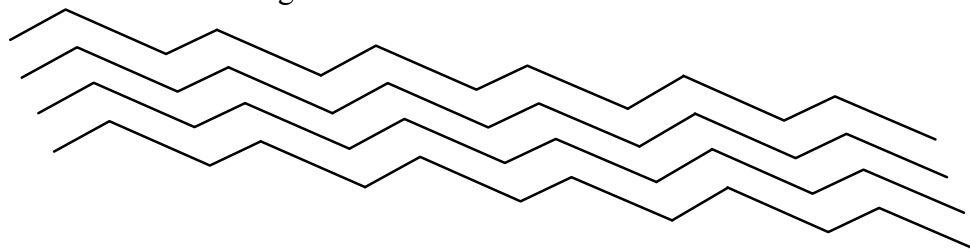


Figura 5. Alinierea fibrelor de celuloză

Aceste rețele dau rezistența mecanică a celulozei, mult mai bună decât cea a amidonului deși ele au la bază același component - glucoza, și asigură insolubilitatea în apă. Ea este întâlnită în peretele celular al plantelor, căruia îi oferă caracteristici structurale și mecanice deosebite. Bumbacul este format numai din celuloză, iar acetății de celuloză produși în industrie își găsesc o largă aplicabilitate în industria textilă. Prin tratarea celulozei cu acid azotic se obține un material care stă la baza celuloidului, dar are și proprietăți explozive.

Cele mai multe animale nu pot folosi celuloza ca sursă energetică deoarece le lipsesc enzimele capabile să rupă legăturile dintre unitățile de glucoză din acest polimer liniar. Termitele pot digera celuloza datorită existenței în tractul lor intestinal a unui microorganism simbiotic, care secretă celulază (întâmplător, pentru om această bacterie este toxică). La fel, unele animale ierbivore conțin în sistemul digestiv bacterii capabile să degradeze celuloza; aceste bacterii produc și efecte nedorite, și anume gaze nocive pentru atmosferă (metan în primul rând), astfel încât unii cercetători consideră că zootehnia generează „efect de seră” (încălzirea ireversibilă a atmosferei și distrugerea stratului de ozon) în măsură cel puțin egală cu arderea combustibililor în industrie și transporturi.

Chitina este al doilea polimer glucidic ca abundență în natură (după celuloză). Structura ei se aseamănă cu a celulozei, conținând însă, suplimentar, o serie de atomi de azot și de carbon care o fac mai rezistentă la apă („hidrofobă”), chitina se găsește în carapacea exterioară a unor insecte, în ciuperci, moluște și altele, unde are rol protector.

Celulele bacteriilor prezintă, pe lângă membrana care le delimitează, și un perete alcătuit din polizaharide bogate în azot (a se vedea Anexe). Acești polimeri conferă rigiditate peretelui, protejând celula de umflare excesivă (care ar duce la distrugerea membranei). Enzime cum sunt cele din lacrimi, sau cele produse de virusurile care au ca țintă bacteriile, distrug acești polimeri. Penicilina și alte antibiotice omoară bacteriile prin faptul că împiedică sinteza pereților bacteriilor. Tot cu rol protector în jurul bacteriilor sunt și **dextranii** (deși uneori ei sunt folosiți și ca formă de depozitare a glucozei de către bacterii). Placa dentară, rezultată în urma activității bacteriilor la suprafața dinților, este bogată în dextrani. Ei au însă aplicații și ca materie primă pentru obținerea de materiale poroase utile în procese de separare și analiză de laborator.

Din pereții celulelor algelor se extrag polizaharide capabile să formeze geluri, cu aplicații în laboratorul de biochimie dar și ca alternativă vegetariană în industria alimentară la agenții de gelifiere pe bază de gelatină (aceasta din urmă fiind un material proteic de proveniență animală).

Acidul hialuronic, alcătuit din doi derivați de glucoză (a se vedea și Anexele), este un lichid vâscos care servește ca lubrifiant conținut la nivelul articulațiilor, în ochi, cartilaje și tendoane. Polimeri cu roluri și structuri similare sunt discutați în Anexe.

Heparina, produsă de către celule din sânge numite leucocite, este eliberată în circulația sanguină, unde inhibă coagularea sângelui. Această coagulare este esențială în oprirea sângerării (formarea cheagului deasupra unei răni). Heparina este folosită adesea în laborator, atunci când se dorește colectarea de probe de sânge astfel încât el să nu coaguleze imediat după ce a fost recoltat, pentru a avea timp să efectuăm măsurătorile dorite.

2.4. Glicoconjugatii: proteoglicani, glicoproteine și glicolipide

În afara rolului structural și energetic, oligozaharidele și polizaharidele sunt și purtători de informație. Ele servesc ca etichete cu rol în recunoașterea unor proteine, ca mediatori ai interacțiunii celulă-celulă și celulă-mediul extracelular, în aderența celulară, migrarea celulară, în sistemul imun, etc. În cele mai multe cazuri, rolurile descrise sunt îndeplinite de către glucide legate de proteine (a se vedea și capitolul 4).

Proteoglicanii: sunt macromolecule de la suprafața celulelor sau din matrixul extracelular, în care lanțuri de glicozaminoglicani sunt legate de proteine secretoare sau membranare. Glicozaminoglicanii sunt heteropolimeri formați prin repetarea unor unități dizaharidice, traversate de proteine fibrilare ca elastina, colagenul, fibronectina și lamina.

Glicoproteinele conțin una sau mai multe oligozaharide legate chimic de o proteină. Anumite glucide atașate pe suprafețele unor proteine servesc drept indicatori ai vârstei acelor proteine: în timp, ele sunt pierdute de către proteină, moment în care un receptor special de la nivelul ficatului sesizează acest lucru și le scoate din circulație ca fiind „expire”.

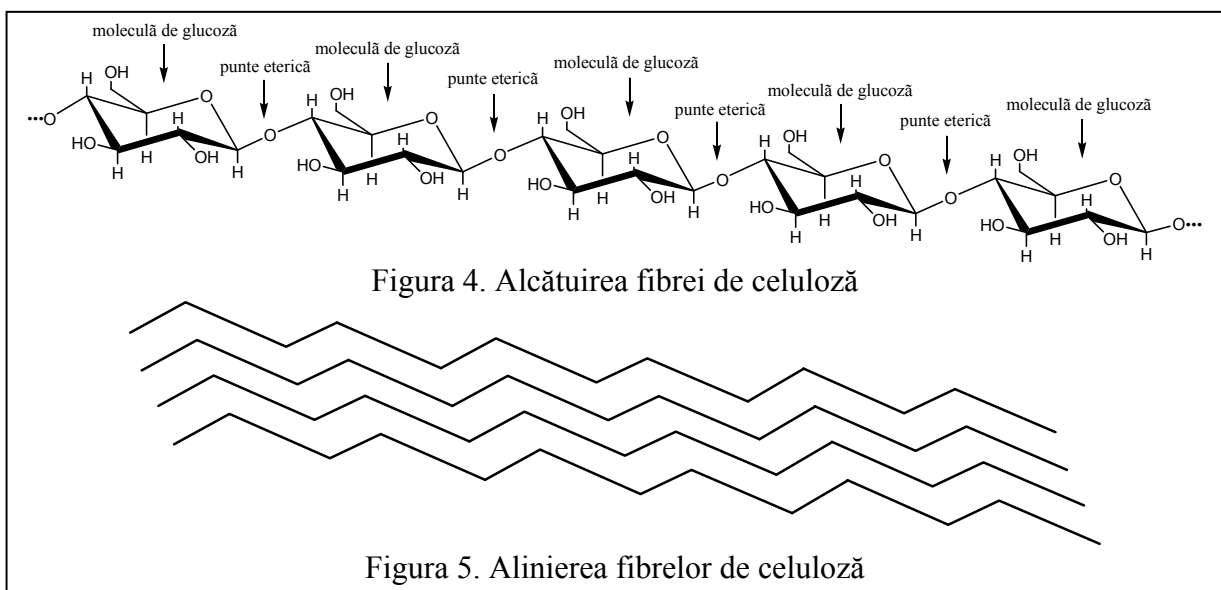
Glicolipidele sunt lipide membranare la care de capătul hidrofil este legat un polizaharid, fiind astfel ușor recunoscute de către glicoproteine.

3. Lipidele

Lipidele cuprind o clasă variată de compuși din organismele vii, a căror trăsătură comună este reprezentată de solubilitatea redusă în apă și solubilitatea mare în solvenți organici. Principalele roluri pe care le au lipidele în organismele vii sunt: **rezervoare de energie, componente structurale principale ale membranei celulare, molecule de semnal (hormoni), protecție** (față de frig, apă). Alte lipide, deși prezente într-o cantitate mai mică, pot îndeplini rolul de emulsificatori în tractul digestiv, componente auxiliare ale enzimelor, mesageri intracelulari, pigmenți care absorb lumina, transportori de electroni, etc. Lipidele sunt molecule cu o mare diversitate structurală; dintre acestea, cele mai notabile vor fi prezentate în continuare:

3.1. Acizii grași

Acizii grași apar rar liberi în sistemele biologice, de cele mai multe ori apar legați prin legături chimice la o structură cum ar fi, de exemplu, glicerolul. Derivații acestora sunt principalele **rezerve energetice** din organismele vii, arderea lor fiind o reacție puternic exotermă care are loc ca produși CO_2 și apă.



Acizii grași conțin în general un lanț liniar de atomi de carbon bogat în hidrogen (grupări $-\text{CH}_2-$), care poate fi privit ca un polimer al gazului metan. De aici și faptul că, asemeni metanului, arderea acizilor grași permite obținerea de cantități mari de energie – de cca două ori mai mult decât din glucide. La unul dintre capete, acizii grași prezintă întotdeauna o grupare carboxil $-\text{COOH}$. Unii acizi grași sunt nesaturați, adică au pierdut câțiva dintre atomii de hidrogen: ca efect, între atomii de carbon care au pierdut hidrogenul se stabilesc legături duble, după cum se vede în Figura 6. Tot Figura 6 arată că geometria legăturii duble poate fi organizată în două feluri, numite *trans* și *cis*. Acizii grași diferă între ei prin numărul atomilor de carbon (de cele mai multe ori cuprins între 12 și 24) și al legăturilor duble. Absența legăturii duble încadrează acidul gras în categoria celor saturați. Acizii grași nesaturați se împart în mono-nesaturați, atunci când în constituția lor apare doar o singură legătură dublă sau poli-nesaturați, atunci când în molecula lor apar mai multe legături duble. În natură legătura dublă apare în configurație *cis* dar, în anumite condiții (fermentație, hidrogenare, unele boli), are loc transformarea acesteia în *trans*.

O dietă bogată în acizi grași trans duce la o creștere a nivelului de LDL din sânge (o proteină care transportă lipide și este cunoscută și drept „colesterolul rău”) și o creștere a capacității de oxidare a acesteia, având efecte negative în ceea ce privește sănătatea organismului, cu rol important în apariția bolilor cardiovasculare.

Cei mai întâlniți acizi grași din natură sunt cel stearic și cel palmitic - ambii saturați. Acizii grași nesaturați sunt mai puțin întâlniți și apar în special la plantele superioare. Dintre aceștia, cel mai răspândit este acidul oleic.

Acidul γ -linoleic, precursorul acidului arahidonic, necesar printre altele în sinteza prostagandinelor, cu rol de hormoni, este un acid „esențial” – adică, el nu este sintetizat în organismul mamiferelor, dar este necesar pentru buna creștere și funcționare a acestuia și, de aceea, trebuie obținut de organism din surse vegetale.

Când alimentele bogate în lipide sunt expuse prea mult timp unei atmosfere cu oxigen, ele devin „râncede”, ca urmare a inserării de atomi de oxigen în legăturile duble din lipide, până la punctul în care acidul gras este rupt în două bucăți mai mici, cu formare de compuși oxidați care prezintă un număr mai mic de atomi de carbon.

3.2. Acilgliceroli (gliceride, sau grăsimi)

Acilgliceroli sunt alcătuiți prin atașarea de acizi grași pe glicerol (glicerină), cum se arată în Figura 7. Când toți cei trei atomi de oxigen ai glicerolului sunt esterificați cu câte un acid gras, se formează un „triacylglicerol”, principala rezervă energetică din țesutul adipos al animalelor. Cei mai mulți acilgliceroli sunt micști, cu mai multe tipuri de acizi grași în aceeași moleculă.

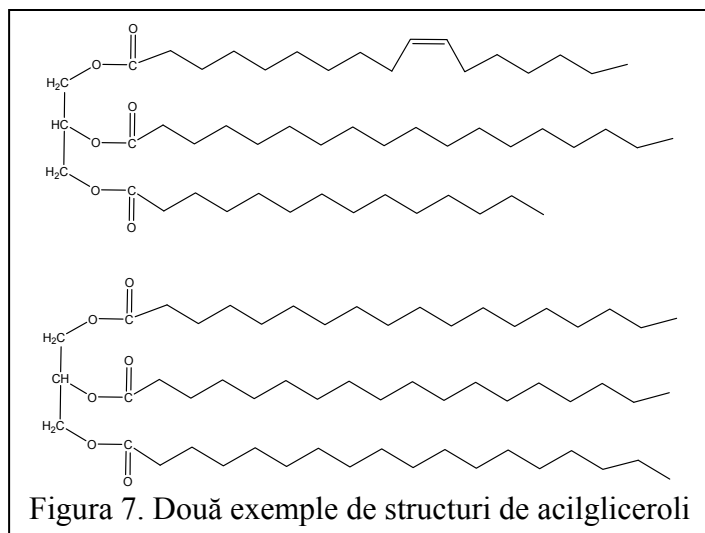


Figura 7. Două exemple de structuri de acilgliceroli

bogate în acizi nesaturați, sunt lichide. Un considerent pentru care triacylgliceroli sunt preferați de către organism ca rezerve energetice este faptul că ei sunt hidrofobi și nu necesită la locul de depozitare (țesuturile adipoase) o cantitate suplimentară de apă pentru menținerea structurii –spre deosebire de glucide, care din cauza grupărilor –OH atrag, în general, multă apă în jurul lor. Țesutul adipos servește nu numai ca rezervă energetică ci are un rol important, mai ales în cazul animalelor polare, pentru menținerea temperaturii corpului constantă (protecție față de frig) în condiții extreme.

Uleiurile vegetale pot fi transformate industrial în grăsimi saturate –deci solide, prin atașare de molecule de hidrogen, obținându-se astfel *margarina* (reducerea unor duble legături și

Proprietățile fizice ale grăsimilor sunt determinate de numărul atomilor de carbon și al legăturilor duble din structura acizilor grași. Astfel, cei saturați au capacitatea de a-și alinia lanțurile de atomi de carbon unul lângă altul formând interacțiuni mai extinse între molecule decât acizii grași nesaturați (unde legătura dublă induce un element de neregularitate care limitează sau împiedică alinierea eficientă a catenelor de carbon). De aceea, grăsimea animală, bogată în acizi saturați, are o consistență vâscoasă-solidă, pe când uleiurile din plante,

transformarea în *cis* a altora) în grăsimi solide. Margarina are avantajul de a fi mai săracă în acizi nesaturați (ceea ce e un element pozitiv pentru sistemul cardiovascular, așa cum s-a arătat mai sus), dar fără a fi de origine animală și deci fără a avea colesterol (colesterolul în exces fiind de asemenea o cauză a problemelor sistemului circulator). Pe de altă parte, în procesul de hidrogenare în care dispar acizii *trans*, iar o parte din ei sunt transformați accidental în acizi *cis*, care provoacă ei înșiși probleme de sănătate, posibil mai mari decât *trans*.

Acilglicerolii pot fi hidrolizați prin încălzire cu un acid sau o bază sau prin tratare cu lipază, o enzimă care catalizează hidroliza legăturilor esterice. Hidroliza în mediu bazic poartă numele de saponificare și are ca produși glicerolul și sarea corespunzătoare acidului gras. Tradițional, ea poate fi realizată prin încălzirea de grăsime animală cu cenușă (cenușa fiind bogată în sodiu și potasiu – surse de mediu bazic). Acizii grași rezultați din proces, cuplați cu sodiu sau potasiu, au caracter dual (amfipatic sau amfifil): la un capăt prezintă gruparea încărcată negativ COO^- care îi face solubili în apă, iar în rest conțin unități $\text{-CH}_2\text{-}$ care îi fac capabili să se atașeze de materiale hidrofobe. Această dualitate le permite să funcționeze ca detergenți sau săpunuri, care atrag în mediul apos depunerile insolubile („murdăria”) de pe materialele solide.

3.3. Glicerofosfolipide și compuși înrudiți

În glicerofosfolipide, cunoscute și ca fosfogliceride, sunt atașați acizi grași la doi dintre cei trei atomi de carboni ai glicerolului, iar de cel de-al treilea atom de carbon este atașată o grupare fosfat, de care mai departe pot fi atașate și alte unități hidrofile. Figura 8 ilustrează astfel de structuri.

Glicerofosfolipidele sunt componente esențiale ale **membranelor celulelor**, după cum se va discuta mai jos. Dintre ele, deși în Figura 8 am ilustrat un compus numit „lecitină”, este de subliniat că preparatele vândute sub acest nume ca suplimente nutritive

sau componente ale spray-urilor de uz culinar „non-stick” (evită aderarea mâncării la tigăi, de exemplu) conțin de fapt amestecuri complexe din toate lipidele ilustrate în Figura 8, și nu doar un singur compus chimic. Lipidele aferente pot fi extrase din surse diverse (ouă, plante, animale), și sunt folosite în numeroase preparate comerciale alimentare ca agenți de emulsificare (ajutând la menținerea stabilității mecanice a unor amestecuri de substanțe care altfel nu ar putea fi amestecate omogen). Lista lipidelor fosforice este însă mult mai lungă. Ele includ printre altele sfingomielinele, importante în teaca de mielină a neuronilor, ceramidele sau ganglioizidele, și au funcții diverse, care includ recunoașterea celulară, transmiterea de semnale, sau roluri structurale.

Legăturile ce implică gruparea fosforică din glicerofosfolipide sunt rupte cu ajutorul unor enzime numite fosfolipaze, care sunt de exemplu o componentă notabilă în unele veninuri animale.

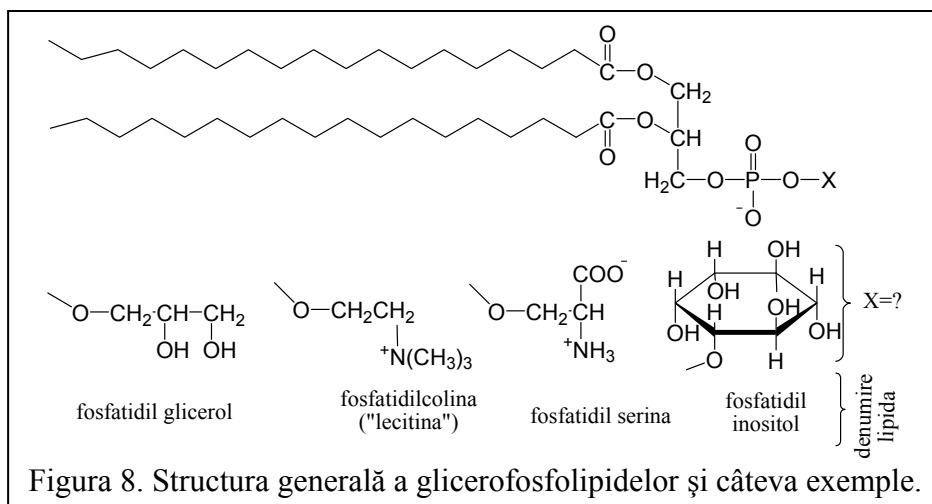


Figura 8. Structura generală a glicerofosfolipidelor și câteva exemple.

3.4. Ceridele

Ceridele sunt compuși formați prin legarea unui alcool cu un acid gras, de obicei saturat, ambii având un lanț lung de atomi de carbon. Ele **conferă** rezistență **la apă** pielii animalelor, frunzelor unor plante și aripilor păsărilor. Suprafața lucioasă a unui măr este datorată acestor compuși. Proprietățile ceridelor le fac utile în activități de lustruire a diferitelor obiecte sau ca produși cosmetici și farmacologici care se absorb foarte repede în piele.

3.5. Terpenele

Terpenele sunt derivați ai izoprenului, un compus simplu format din hidrogen și 5 atomi de carbon (cf. Anexe). Câteva exemple de structuri din aceste clase sunt redată în Anexe. Ele au roluri diverse și includ compuși foarte volatili și cu miros puternic, precum mentolul sau limonenul, precursori ai colesterolului, pigmenți sensibili la lumină precum carotenoidele (β -caroten, care este precursor al vitaminei A și al pigmenților din ochi), sau vitamine (K, E, Q – în care însă partea terpenică asigură doar hidrofobicitatea necesară pentru atașarea de membrane, nu și principiul activ).

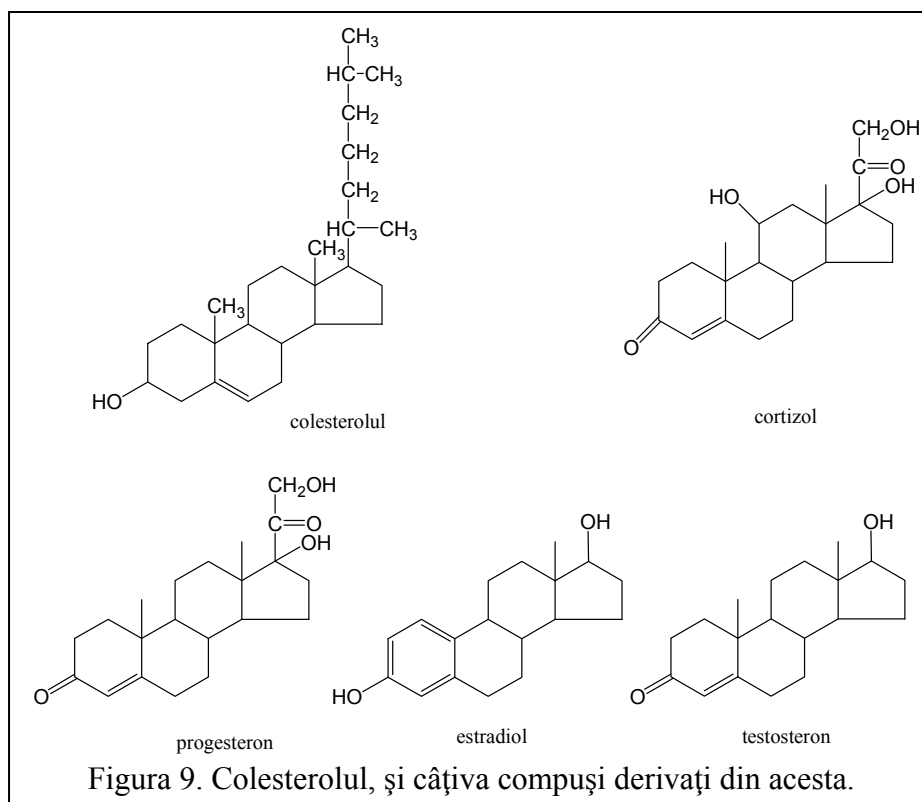
3.6. Steridele (Izoprenoidele)

Steridele prezintă ca trăsătură comună prezența unui nucleu format din patru structuri ciclice, trei dintre ele având 6 atomi de carbon, iar una 5 – după cum se ilustrează în Figura 9. Molecula de colesterol, sterolul majoritar din țesuturile animalelor și precursorul hormonilor steroidici, este amfipatică: prezintă un capăt polar (gruparea hidroxil de la C-3) și unul nepolar (un lanț alchil la poziția 17).

Colesterolul apare în **membranele celulare plasmatic** (cele care delimitează

celula) și într-o cantitate mai mică în membranele organelor intracelulare. Este o componentă a lipoproteinelor din sânge și intră în constituția plăcii aterosclerotice din peretele vaselor sanguine.

Steroidele derivă din colesterol și cuprind cinci clase de **hormoni** care reglează citirea informației genetice din nucleeele celulelor: androgeni, estrogeni, progesteroni, hormoni glucocorticoizi și mineralocorticoizi. Ei controlează dezvoltarea caracterelor și a funcțiilor



sexuale la animale (testosteronul și estradiolul din clasa androgenilor, respectiv, estrogenilor), participă în controlul ciclului menstrual și al gravidității (progesteronul), în controlul metabolismului glucidic, lipidic și proteic (cortizolul din clasa glucocorticoizilor) și în echilibrul unor ioni (Na^+ , K^+ , Cl^-) la nivelul țesuturilor (mineralocorticoizii).

Acizii biliari sunt derivați polari ai colesterolului care, în intestine, se comportă ca detergenți, cu rol în emulsionarea grăsimilor; ei sunt produși eliberați în intestinul subțire de la ficat, unde sunt depozitați în vezica biliară (de unde și numele lor); este de notat că la ceva vreme după eliberare ei sunt parțial resorbiți și trimiși înapoi la bilă, fiind astfel recirculați alături de alte componente (dar nu toate) ale secreției biliare.

În general plantele, cu câteva excepții minore de compuși, care nu îi includ însă pe cei menționați mai sus, nu sintetizează și nu folosesc steroli; în cazul bacteriilor, absența este chiar totală. Produsele animaliere sunt așadar singura sursă posibilă de colesterol în alimentație.

3.7. *Eicosanoidele*

Eicosanoidele sunt derivate din acidul arahidonic, un acid gras nesaturat cu 20 de atomi de carbon. Anexa ilustrează câteva exemple de astfel de structuri. Ele **acționează** ca **molecule de semnalizare** care transmit mesaje în imediata vecinătate a celulelor care i-au generat, fiind implicate în funcțiile de reproducere, în procesele inflamatorii, febră, durere, reglarea presiunii sângelui, în secreția acidului gastric și altele.

Printre eicosanoide se numără prostaglandinele, importante în contracția musculaturii netede, în procese ca respirația (la nivelul bronhiilor), circulația sângelui sau nașterea (contracția uterului). Unele produc febră, inflamații și durere. Alte eicosanoide, tromboxanii, sunt produși de celulele numite trombocite și au rol în coagularea sângelui. Medicamentele antiinflamatorii ca ibuprofenul sau aspirina inhibă enzima care catalizează formarea prostagandinelor și a tromboxanilor, plecând de la acidul arahidonic.

O a treia categorie de eicosanoide este reprezentată de leucotriene, molecule semnal foarte puternice care induc contracția musculaturii căilor aeriene; supraproducția acestora poate cauza socul astmatic.

3.8. *Membranele*

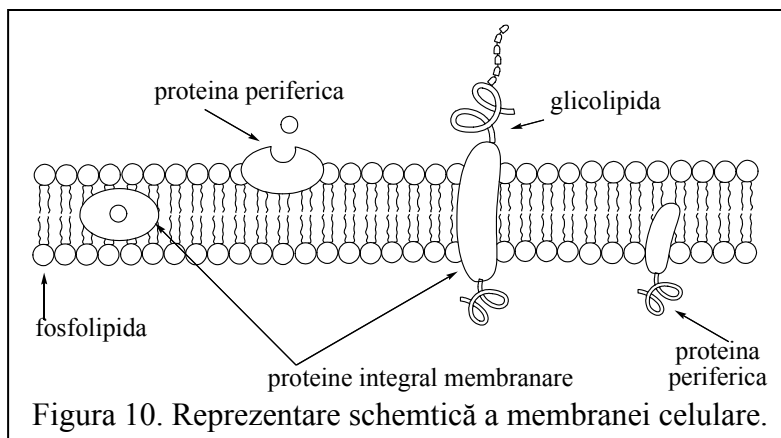
Celulele au numeroase tipuri de membrane, care îndeplinesc multiple funcții. Membrana plasmatică izolează citoplasma de mediul exterior, permițând traficul bidirecționat și controlat al moleculelor și servind astfel la acumularea de nutrienți sau la detoxificarea celulei. Ea are de asemenea un rol important în locomoție, reproducere, semnalizare, interacțiune cu alte molecule sau alte celule din vecinătate.

Așa cum se va vedea în capitolele următoare, multe procese celulare au loc chiar în membrane – fie în cele care delimitează celula fie în cele care delimitează organitele celulare: fotosinteza, lanțul transportor de electroni, fosforilarea oxidativă, transmiterea impulsului nervos, etc.

Așa cum se ilustrează în Figura 10, membranele biologice sunt alcătuite din lipide și proteine (ambele categorii având și opțiunea, uneori folosită, de a fi legate suplimentar și de unități glucidice). Având și părți hidrofile și hidrofobe, lipidele membranare sunt molecule amfipatice, care pot stabili contacte cu mediul apos din exteriorul celulei, în același timp oferindu-i membranei proprietăți hidrofobe, acționând ca o barieră efectivă împotriva moleculelor polare sau încărcate electric. Cele două straturi lipidice din componența membranei sunt ținute

strâns într-o structură unitară prin intermediul legăturilor necovalente dintre unitățile de acid gras (A se vedea și Anexele).

Proteinele pot interacționa cu lipidele din membrane în diferite moduri. Unele se asociază membranei datorită interacțiunilor electrostatice pe care le realizează cu suprafața acesteia, altele sunt încorporate în matricea hidrofobă din miezul membranei, iar altele sunt legate prin legături chimice de lipide membranare, fiind astfel „ancorate” în straturile lipidice.



Lipozomii, structuri lipidice care se aseamănă cu membrana intactă a unei celule (dar fără proteine), sunt structuri artificiale produse în laborator prin agitarea puternică a unei suspensii de fosfolipide. Ei sunt folosiți în laborator pentru studiul proprietăților membranelor, dar și în produse farmaceutice și medicale unde ei facilitează transportul prin organism a componentei active și livrarea acesteia direct în celule prin contopirea membranei lipozomului cu membrana celulei.

Toate membranele biologice sunt asimetrice din punct de vedere structural și funcțional. Suprafața internă și cea externă a unei membrane diferă atât în compoziție cât și în activitate enzimatică, aceste diferențe stând la baza bunei funcționări a întregii celule. Aceste diferențe țin atât de lipidele cât și de proteinele membranare.

4. Proteinele și aminoacizii

Proteinele sunt substanțe polimerice, formate prin legarea chimică a unui număr mai mare de **aminoacizi**. Ele acționează ca și catalizatori (numite atunci enzime), semnalizatori (hormoni – de exemplu insulina, care controlează procesarea glucozei), în apărare (anticorpi, toxine, antibiotice), în mișcare (fibre musculare), transport (hemoglobina din sânge pentru oxigen, albumina din sânge pentru lipide, vitamine și altele), depozitare (de exemplu feritina pentru fier, ori cazeina din lapte) structural (colagenul), și altele. Unele conțin pe lângă aminoacizi și o componentă de altă natură, numită grupare prostetică, ce le ajută să-și îndeplinească funcția - lipidele (lipoproteinele din sânge, de tipul LDL sau HDL), glucide, metaloproteine (feritina – cu Fe, alcool dehidrogenaza – cu Zn, calmodulina – cu Ca), și altele.

4.1. Aminoacizii

Douăzeci dintre aminoacizi sunt des întâlniți în componența proteinelor, toți având aceeași structură generală: un atom de carbon la care sunt legate patru unități diferite - o grupare carboxilică COO^- , o grupare amino NH_3^+ , un atom de hidrogen și o grupare simbolizată R, care este diferită la fiecare aminoacid. Acest R variază în structură și mărime; structurile celor 20 de aminoacizi importanți sunt ilustrate în Anexa 4. Pentru denumirea aminoacizilor se utilizează prescurtări din trei litere sau un simbol dintr-o literă (ex: histidina – His sau H; triptofan – Trp sau W). Ca și în cazul glucidelor, aminoacizii conțin atomi de carbon chirali; spre deosebire de glucide, care sunt preferate de organisme sub forma D, aminoacizii sunt folosiți preferențial sub forma L.

Doi aminoacizi pot fi legați între ei covalent printr-o legătură numită și legătură peptidică, se formează astfel o *dipeptidă*. În mod similar se pot forma tripeptide, tetrapeptide, etc (sau în general, “oligopeptide”). Atunci când numărul de aminoacizi care se leagă este mai mare (în general, peste 50) se obțin proteinele (ele pot conține până la câteva zeci de mii de aminoacizi, fiind numite și “polipeptide”); ele sunt întotdeauna polimeri liniari și nu ramificați.

Pe lângă rolul de unități de bază în construcția proteinelor, și de cel de resursă de energie, aminoacizii sunt importanți și în sinteza altor clase de compuși. Astfel, fenilalanina reprezintă substanța de plecare în producerea hormonilor tiroidieni. Triptofanul are un rol important în metabolism, fiind strâns legat de formarea vitaminei B₃ dar și a serotoninii din sistemul nervos. Tirozina are o însemnătate deosebită în organismele animale inclusiv prin faptul că poate forma adrenalina (=epinefrina).

Pe lângă cei 20 de aminoacizi comuni, există și alți aminoacizi care intră în componența unor proteine, adesea obținuți prin modificarea unora din cei 20. Spre exemplu, aminoacizi cu exces de oxigen se găsesc în țesutul conjunctiv, iar aminoacizi cu exces de atomi de carbon se găsesc în mușchi.

4.2. Structura proteinelor

Compoziția aminoacizilor în structura proteinelor variază în mare măsură. În majoritatea proteinelor se găsesc cei 20 de aminoacizi comuni, prezenți de obicei, în cantități similare; excepții sunt His, Cys, Met, Tyr și Trp care se găsesc în cantități mai mici. Unele proteine specializate au o compoziție neobișnuită: spre exemplu mai mult de jumătate din proteina numită colagen e constituită doar din doi dintre aminoacizi - glicina și prolina. **Structura primară** (sau **secvența**) este definită ca ordinea în care sunt așezați aminoacizii într-o proteină. Această structură, principial liniară, se împachetează în spațiu în forme complexe, în care diversele părți

ale polimerului se întâlnesc și interacționează între ele prin legături de hidrogen, punți ionice, interacțiuni hidrofobe (a se vedea Anexa 1), și, mai rar, legături cu metale și legături sulf-sulf. Anumite porțiuni din structura proteinelor adoptă motive structurale comune în majoritatea proteinelor – cele mai importante fiind porțiunile de tip spiral numite helixuri și porțiunile de lanțuri aproximativ liniare și aliniate între ele, numite foi beta; generic, astfel de elemente locale de organizare se numesc **structură secundară** (prin contrast cu cea primară descrisă mai sus). **Structura terțiară** se referă la aranjamentul de ansamblu al întregii catene proteice în spațiul tridimensional. **Structura cuaternară** se referă la aranjamentul în spațiu al proteinelor *care conțin două sau mai multe lanțuri de aminoacizi*. Cel mai cunoscut exemplu de proteină cu structură cuaternară este hemoglobina din sânge.

Proteinele se clasifică în trei mari clase: fibrilare (insolubile în apă, organizate sub formă de fibre, așa cum arată și numele), membranare (inserate în membranele celulelor, și de aceea insolubile în apă) și globulare (solubile în apă).

4.3. **Enzime**

Enzimele sunt proteine specializate în a cataliza reacții (a le mări viteza) în organismele vii. Substanța asupra căreia acționează o enzimă este denumită în general *substrat*.

Majoritatea enzimelor conțin în denumirea lor numele substratului pe care îl leagă, sau cuvinte/fraze ce descriu activitatea lor, urmate de sufixul ‘ază’. Spre exemplu lipaza acționează asupra lipidelor, proteaza acționează asupra proteinelor, etc. Alte enzime au fost însă denumite înainte de a se cunoaște modalitatea prin care acționează și poartă numele acțiunii în care sunt implicate; spre exemplu pepsina, cu numele provenind din cuvântul grecesc însemnând “digestie”, este implicată în digestia alimentelor.

Partea din enzimă care participă direct la procesul de cataliză se numește centru catalitic; se folosește și denumirea mai generală de centru activ (aplicabilă și porțiunilor care execută alte operațiuni decât cataliza). Unele enzime folosesc la centrul activ componente chimice adiționale (deci, nu formate din aminoacizi ca restul proteinei), numiți cofactori (în funcție de modul de legare, ei pot fi întâlniți și ca “grupări prostetice” sau “coenzime”) – care pot fi molecule pe bază de carbon (inclusiv cunoscutele vitamine) sau chiar metale (Fe, Mg, Mn, Zn).

Multe substanțe pot afecta procesele metabolice prin faptul că influențează activitatea enzimelor, micșorând activitatea lor (se comporta ca *inhibitori*). Inhibiția stă la baza funcționării multor produse farmaceutice.

Precum s-a menționat, reacțiile enzimelor sunt asistate și de grupări non-proteice, numite cofactori. O parte mare din acești cofactori sunt formați prin modificarea unor substanțe esențiale, numite *vitamine* (termenul provine de la faptul că vitamina B1, prima descoperită, conținea azot, fiind clasificată de aceea ca amină – de la termenul de amină „vitală” provenind apoi prin contracție cuvântul “vitamină”). Vitaminele sunt substanțe care nu pot fi sintetizate de către organism, însă prezența lor în corpul uman este esențială pentru funcționarea acestuia. După solubilitatea lor în apă, vitaminele se clasifică în două categorii: hidrosolubile și liposolubile. Ele sunt discutate în mai mult detaliu în capitolul 7.

5. Acizii nucleici

Acizii nucleici au un rol important în depozitarea și transmiterea informației genetice. Ei se împart în două clase majore: ADN-ul, implicat în depozitarea informației genetice și ARN-ul, prezent în general în diferite etape ale citirii informației și în biosinteza proteinelor.

Asemeni proteinelor, acizii nucleici sunt polimeri liniari. Ei sunt alcătuiți din unități numite *nucleotide*; o nucleotidă este la rândul ei alcătuită din trei componente mai simple: un acid fosforic (de aici și numele de *acizi* nucleici – cealaltă parte a numelui derivând din faptul că mare majoritate din funcțiile lor se desfășoară în *nucleul* celulei), o glucidă, (fie riboza, de la care derivă numele de acid ribonucleic, prescurtat ARN, fie deoxiriboza, de la care derivă numele acid deoxiribonucleic, ADN), și un compus conținând azot care este numit generic „bază azotată”. Cinci astfel de baze azotate sunt întâlnite în acizii nucleici ai tuturor organismelor vii; adenina (A), guanina (G), citozina (C) și timina (T) și uracilul (U). A, G, C, T sunt prezente în ADN, iar A, G, C, U sunt prezente în ARN. Structurile ADN și ARN sunt ilustrate în Figura 11.

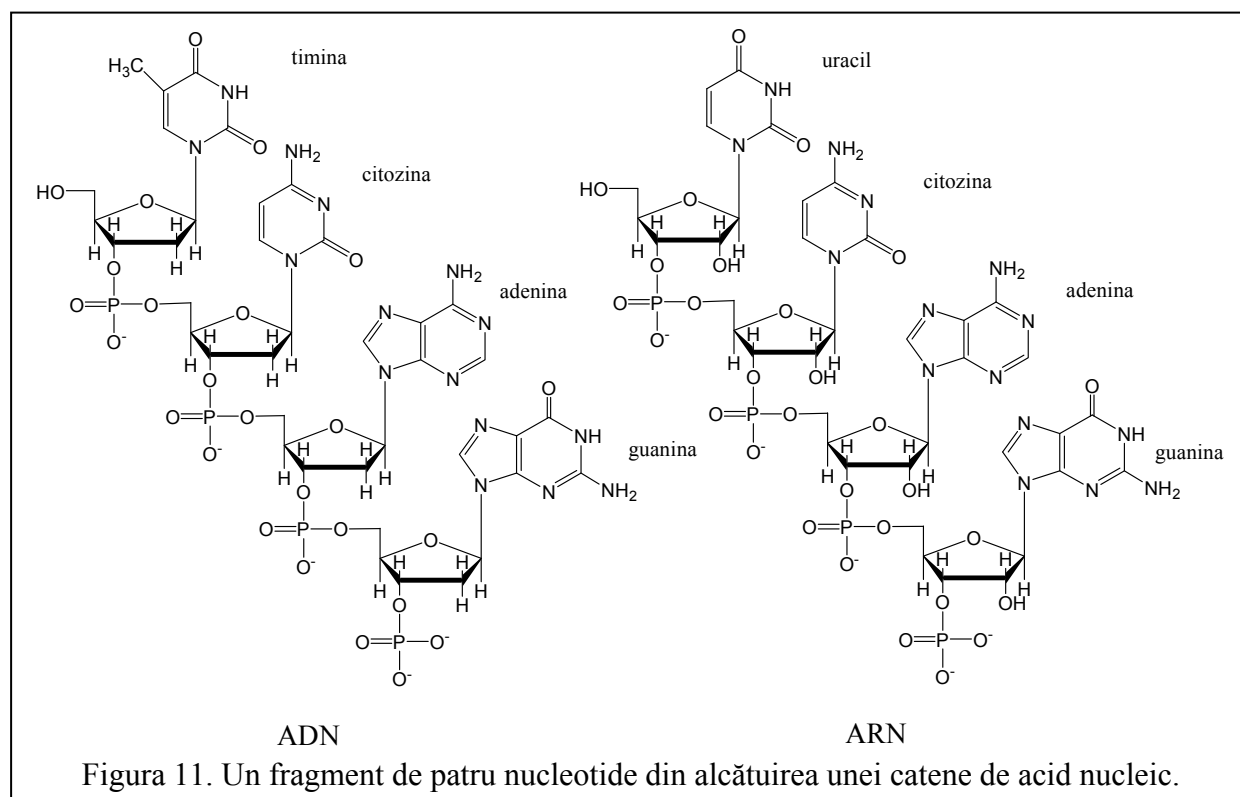


Figura 11. Un fragment de patru nucleotide din alcătuirea unei catene de acid nucleic.

Structura care se obține prin eliminarea acidului fosforic din nucleotidă se numește nucleozidă; astfel, generic, unei nucleotide i se poate spune și nucleozid monofosfat (de exemplu, adenzin monofosfat, prescurtat AMP); uneori pe nucleotidele libere se poate atașa la gruparea fosfat o a doua, obținându-se nucleozid difosfați (ADP, GDP, etc); cu încă o grupare fosfat se obțin nucleozid trifosfați, dintre care ATP (adenzin trifosfat) are un rol remarcabil. Anume, din cauză că legătura chimică dintre ultimele două grupări fosfat din ATP se produce cu aport energetic, și din cauză că la ruperea acelei legături energia înmagazinată inițial poate fi eliberată, ATP funcționează ca depozitar universal de energie în toate organismele pe care le cunoaștem; se mai folosește și expresia “moneda universală de energie a celulelor vii”. Și alte nucleotide sau nucleozide libere au funcții în afara participării la structura ADN sau ARN; spre exemplu, adenzina funcționează ca hormon care controlează printre altele dilatarea vaselor de sânge,

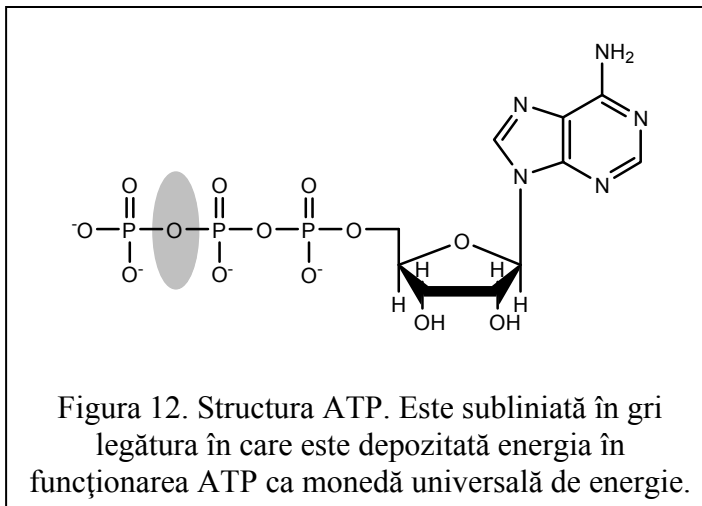
contractia musculară, transmiterea impulsului nervos sau metabolismul grăsimilor; cafeina și compusul înrudit teobromina, care dau efectele stimulative ale cafelei și ceaiului, își datorează activitatea faptului ca întâmplător au o structură similară cu a adenozinei).

5.1. ADN

ADN se găsește în general în nucleul celulei, într-o formă împachetată alături de proteine speciale, sub forma unor formațiuni numite „cromozomi”. Ordinea în care se așează nucleotidele în structura ADN alcătuiește un cod care arată compoziția fiecărei proteine din celula respectivă (din ce aminoacizi este ea formată și în ce ordine sunt aceștia așezați) – toate înscrise, pe rând, în aceeași moleculă de ADN. Acesta este rolul ADN – unul singur, spre deosebire de alte clase de molecule (proteine, glucide, lipide) care

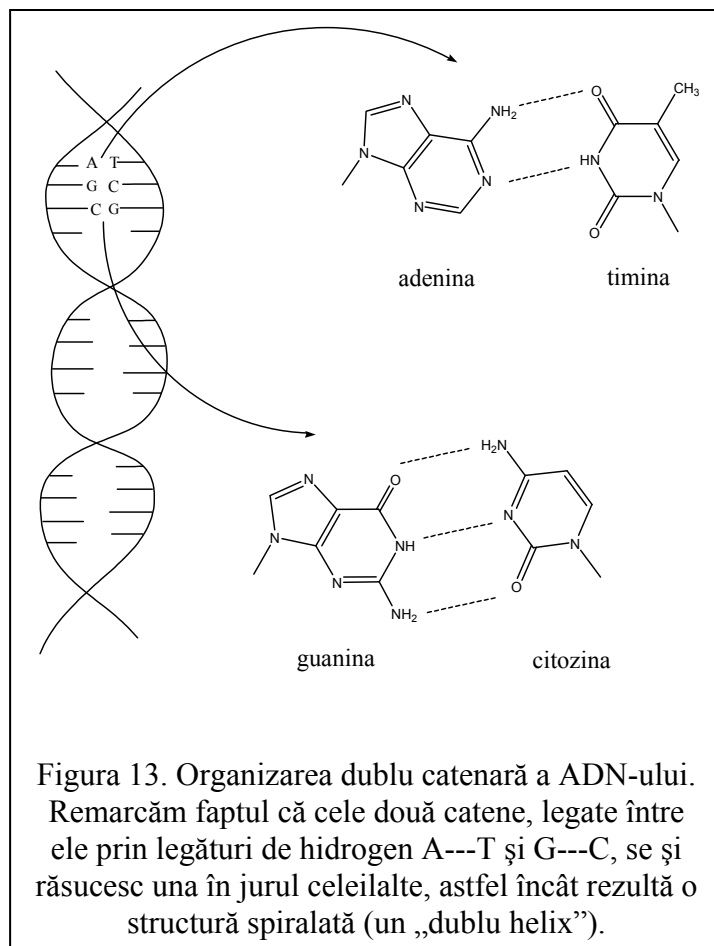
au roluri mult mai diverse. Cum o celulă tipică va conține mii de proteine, ADN poate deveni destul de lung: spre exemplu, cel uman are cca 2 metri – și este nevoie de operații extrem de complexe ca acesta să poată fi împachetat într-un nucleu ce are un diametru de cca un milion mai mic decât lungimea ADN. Este de menționat că, în special la organismele mai complexe, ADN conține nu doar lista compoziției tuturor proteinelor pe care organismul respectiv le-ar putea sintetiza, ci, intercalate printre informațiile referitoare la proteine, el mai conține și porțiuni care funcționează drept „comutatoare”: aici se pot lega molecule din exterior (de obicei tot proteine, produse de aceeași celulă), care să controleze în ce măsură informația referitoare la o anumită proteină trebuie citită – astfel încât, în condiții normale, fiecare proteină este produsă exact în cantitatea (diferită de la proteină la proteină) în care ea este necesară; există inclusiv proteine care este posibil să nu fie produse deloc pe parcursul vieții unei anume celule, pentru ca nu s-au îndeplinit condițiile de mediu sau interne în care să fie nevoie de ea. Pentru informația depozitată în ADN se folosește și termenul de „informație genetică”. Modul (relativ simplu, după cum se va vedea), prin care secvența de nucleotide din ADN (A, T, C, G) este „tradusă” în secvențe de aminoacizi din proteine poartă numele de „cod genetic”. Remarcăm faptul că această sumă de informații despre producerea proteinelor este toată informația de care are nevoie celula pentru a supraviețui și a se multiplica; nu găsim aici informații *directe* despre alte molecule (glucide, lipide, vitamine): proteinele produse pe baza ADN-ului se vor ocupa de prelucrarea tuturor celorlalte substanțe.

După cum s-a arătat, ADN este esențial pentru funcționarea celulei. De aceea, nu surprinzător, în mod obișnuit molecula de ADN este prezentă în celula vie sub formă de două lanțuri – cvasi-identice (două „copii”). Folosim ghilimelele pentru că cele două lanțuri de ADN nu sunt identice chimic unul cu celălalt, dar conțin totuși aceeași informație. Anume, cele două catene profită de o proprietate a bazelor azotate A, T, C și G de a se lega una de alta prin legături de hidrogen (a se vedea și Anexa) dar foarte selectiv: anume, A se leagă doar de T, iar G doar de C. Cele două catene de ADN din nucleu se aliniază una lângă cealaltă astfel încât întotdeauna acolo unde o catenă conține A, cea de alături să conțină T, iar în dreptul unui G cealaltă catenă să



conțină un C, formându-se deci, de la un capăt până la celalalt al celor două catene, legături de hidrogen intermoleculare.

Prezența a două catene de ADN conținând aceeași informație în nucleul celulei prezintă două avantaje. Dintr-un punct de vedere, există în acest fel o „copie de rezervă” în cazul în care reacții chimice ar afecta accidental una dintre „copii”: e posibil astfel procesul de reparare, care are loc continuu în celulele vii, a leziunilor ADN; în fapt, pe parcursul unei zile fiecare dintre celulele noastre suferă zeci de mii de astfel de accidente, potențial letale, care sunt fiecare corectate fără ca noi să percepem acest lucru în vreun fel. Pe de altă parte, atunci când celula urmează să se dividă în alte două celule (forma de multiplicare/reproducere a celulelor), fiecare dintre cele două celule-fică va primi câte o copie din ADN-ul celulei-mamă. Odată separate, fiecare catenă de ADN va servi ca model pentru producerea unei noi copii.



Se vede aici că menținerea integrității ADN este esențială pentru supraviețuirea unui organism și implicit a speciei din care face el parte. Ca orice alt proces în natură, operațiile de copiere a ADN nu se desfășoară întotdeauna fără greșeli. Situațiile în care ADN-ul nou produs diferă prin cel puțin o nucleotidă de cel original, sunt numite mutații genetice, iar indivizii respectivi sunt numiți „mutanți”. Mutațiile genetice stau la baza evoluției: acolo unde aceste accidente duc la indivizi mai „de succes”, ele sunt perpetuate în descendenții acelor indivizi; acolo unde ele duc la probleme de funcționare a organismului, ele tind să dispară treptat odată cu indivizii care le produc. Tot mutațiile sunt cele responsabile de unele boli (cancerul fiind unul dintre cele mai cunoscute exemple), dar și, potrivit unor teorii, de procesul de îmbătrânire. Multe dintre substanțele produse în mod accidental sau nu de activitatea umană pot afecta ADN-ul (și sunt numite de aceea „mutagene”). O importantă sursă a alterării mutagenice este „stresul oxidativ” generat de speciile reactive provenite din molecula de oxigen (apa oxigenată, superoxidul și altele) și de *radicalii liberi* (substanțe, adesea pe bază de carbon, care spre deosebire de cele obișnuite au în structura lor un număr impar de electroni, ceea ce face ca în timp ce majoritatea electronilor lor rămân cuplați în legături chimice, unul singur dintre ei să rămână fără partener – ceea ce îl face să reacționeze extrem de ușor cu alte molecule, deci greu de controlat și periculos). Astfel de specii reactive sunt prezente spre exemplu în fumul de țigară. Un alt exemplu de agenți mutageni sunt radiațiile de energie mai mare decât cea vizibilă: cele ultraviolete (UV – împotriva cărora se folosesc spre exemplu pentru protecție cremele solare) dar

și cele mult mai puternice (cum sunt cele de tip x, produse de reacțiile rare în care sunt alterate nucleeele atomilor – cazul centralelor nucleare, bombelor „atomice”, dar și al aparatelor extrem de utile în medicină, de radiologie).

În prezent biochimistii au dobândit cunoștințele necesare pentru a manipula ADN-ul în moduri multiple. El poate fi copiat în orice cantități, fie în întregime fie pe porțiuni bine determinate. Se pot introduce modificări selective în ADN, mergând până la situația în care porțiuni de ADN dintr-un organism pot fi introduse în altul (care devine astfel „modificat genetic”). Utilitatea acestei proceduri este inestimabilă spre exemplu în medicină: putem produce în cantități nelimitate proteine umane necesare ca medicamente, cum este insulina, modificând genetic microbi pentru a o sintetiza; putem de asemenea aduce într-un bolnav porțiuni de acid nucleic ce „învață” celulele bolnave să lupte împotriva bolii; nu în ultimul rând, putem copia selectiv porțiuni din ADN-ul unor organisme sau virusuri periculoase, pentru a înțelege mai bine cum funcționează și a găsi astfel modalități noi de a lupta împotriva bolilor sau infecțiilor.

5.2. *ARN*

În contrast cu ADN-ul, ARN-ul nu poate forma structuri de dublu helix decât pe porțiuni scurte (din cauza unui atom de oxigen pe care nucleotidele sale îl au în plus față de ADN). Probabil din această cauză, ARN poate adopta o varietate mult mai mare de structuri spațiale și de funcții. Se disting mai multe tipuri de ARN: ARNr („ribozomal”, parte a componentelor celulare care produc proteine, numite ribozomi), ARNt („de transport”, care transportă aminoacizi către ribozomi), ARNm („mesager”, care este o copie a unei porțiuni de ADN, și care este folosită de ribozomi pentru a citi informația provenită de la ADN și a produce astfel proteine), și altele mai puțin cunoscute (unii chiar capabili să catalizeze reacții). Procesul prin care se sintetizează proteine de către ribozomi se numește în biochimie translație (un sinonim pentru „traducere”, pentru că se traduce informația scrisă sub formă de nucleotide în ADN, în informație sub formă de aminoacizi în proteină), iar sinteza ARNm se numește transcripție (un sinonim pentru „transcriere”, pentru că se transcrie o parte din informația de pe ADN, de obicei, cea referitoare la una sau câteva proteine), pe catena de ARNm. Anexele de la finalul cărții detaliază aceste procese.

Din cauza versatilității ARN comparativ cu ADN, unii cercetători presupun că organismele primordiale ar fi învățat să folosească prima dată ARN, ADN apărând doar ceva mai târziu; în fapt, există și azi virusuri, dar nu și organisme vii, care își stochează informația genetică pe ARN în loc de ADN.

Datorită faptului că sinteza proteinelor este o funcție centrală în fiziologia celulară, ea reprezintă o țintă principală a multor antibiotice și toxine, care să blocheze funcționarea ribozomului. Exemple sunt tetraciclina, cloramfenicolul sau streptomicina. Există de asemenea și alte proceduri medicale care țintesc ARN-ul.

Etapa ultimă a sintezei proteice constă în împachetarea și procesarea lanțului proteic în forma activă biologic. În timpul sintezei și după, în mod progresiv ea își va dobândi forma utilă pentru organism (formă determinată de forte și componente discutate în capitolul 4). Ocazional, la acest moment se efectuează și modificări chimice (numite „post-translaționale” din motive evidente) – unde se adaugă sau de elimină atomi din proteină, fie pentru a-i controla activitatea, fie pentru a-i controla destinația în celulă/organism.

6. Metabolismul

Metabolismul servește două scopuri principale: generarea energiei necesare tuturor proceselor vitale din organism, și sinteza de biomolecule. El constă în sute de reacții realizate de enzime, organizate în diferite căi specifice. Căile metabolice se pot împărți în două clase majore:

- una *catabolică*, în care molecule mai complexe (carbohidrații, proteinele, grăsimile) sunt transformate, prin oxidare în produși mult mai simpli și mici (acid lactic, CO_2 , NH_3 , etc). Din energia obținută, o parte este conservată de către ATP și de către molecule specializate în transport de electroni (NADH, NADPH, FAD – a se vedea și capitolul 7); restul se transformă în căldură;
- una *anabolică*, sau biosintetică, în care precursori, sub forma moleculelor simple și mici, servesc la construirea moleculelor complexe (lipide, proteine, polizaharide și acizi nucleici). Aceste procese necesită energie, furnizată de ATP, NADH, NADPH și FADH_2 .

După cum s-a subliniat și în capitolele precedente, o parte din energia provenită de la alimente și energia luminoasă este transformată de către celulă într-o moleculă ușor accesibilă, adenosin-trifosfat (ATP). Energia este apoi eliberată din ATP prin eliminarea unei legături fosfat-fosfat (cum s-a indicat în Figura 12). ATP-ul este un transportor bun al grupării fosfat, servind ca principalul donor *rapid* de energie din sistemele biologice. Un organism uman aflat în repaus consumă aproximativ 40 de kg de ATP în 24 de ore. Pentru două ore de alergare, sunt utilizate 60 kg ATP. A nu se înțelege că organismul are un schimb cu mediul de 40 sau 60 de kg: ATP-ul se poate compara cu un acumulator încărcat cu energie, care, prin consumarea energiei, se transformă în ADP (adenosin difosfat - care este echivalentul unui acumulator descărcat); acumulatorul există în continuare în organism doar că necesită reîncărcat. Deci, este vital să existe mecanisme de regenerare a acestei molecule. Generarea ATP-ului este unul dintre rolurile importante ale catabolismului. Carbonul din moleculele din alimentație (glucide, lipide, proteine) este oxidat la CO_2 , iar energia eliberată este folosită pentru regenerarea ATP-ului din ADP. Unii compuși ai sistemelor biologice au un potențial de transfer al grupării fosfat (deci, conținut energetic imediat accesibil) mai mare decât al ATP-ului. Din categoria acestora face parte fosfoenolpiruvatul (PEP) sau și creatinfosfatul; aceste molecule pot ceda gruparea fosfat către ADP, cu formare de ATP. În mușchi creatinina are un rol important tocmai de a servi ca rezervor de grupări fosfat pentru regenerarea rapidă a ATP, atunci când el este consumat în ritm constant.

6.1. Catabolismul

În generarea energiei provenite din surse alimentare, se descriu trei faze.

- 1) În prima fază, moleculele mari sunt transformate în unități mici. Proteinele sunt hidrolizate la cei 20 de aminoacizi, polizaharidele la zaharuri simple și glucoză, iar grăsimile, la glicerol și acizi grași.
- 2) În faza a doua, moleculele mici obținute în prima fază sunt degradate la unități simple (de obicei conținând câte doi atomi de carbon), care joacă un rol important în metabolism. În această fază se produce o cantitate de energie mult mai mică decât cea obținută în cea de-a treia fază. Principalul lanț de reacții din această etapă este *glicoliza*.
- 3) În cea de-a treia fază, ATP-ul este produs ca urmare a unei oxidări complete a unităților simple produse la punctul 2). Un element cheie aici este *ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs sau ciclul acidului citric)* Aici carbonul provenind din hrană este finalmente transformat în CO_2 ; această oxidare înseamnă și că s-au extras 4 electroni per atom de carbon, iar acei electroni vor fi mai apoi utilizați pentru producerea ATP-ului.

6.1.1. *Glicoliza*

Prin glicoliză, o moleculă de glucoză cu șase atomi de carbon este scindată, în urma mai multor reacții, în două molecule de acidul piruvic (a câte trei atomi de carbon fiecare). În primul pas, celula investește energie în glucoză, consumând două molecule de ATP pentru a plasa două unități de fosfat pe glucoză. Astfel activată, ea devine mult mai reactivă și poate fi descompusă mai ușor, în câțiva pași care duc la eliberarea unei cantități mai mari de ATP decât cea investită, la eliberarea de NADH (deci, tot energie provenită din glucoză), și, în cele din urmă, de acid piruvic (AP). În condiții normale, AP este apoi supus unei operații intermediare prin care pierde un atom de carbon sub formă de CO_2 , după care este prelucrat în ciclul lui Krebs până la CO_2 și apă.

Cele mai multe țesuturi au nevoie de glucoză pentru a funcționa. Pentru creier, această nevoie este esențială. Modalitatea majoră de a metaboliza glucoza este glicoliza, proces care se poate desfășura în citosol, atât în condiții aerobe, cât și anaerobe. Oxidarea glucozei dincolo de piruvat necesită în om atât oxigen cât și mitocondrii (organite celulare în care se extrage majoritatea energiei din nutrienți, numite de aceea și „uzinele energetice ale celulei”). Aproape toate celulele noastre conțin mitocondrii; o excepție sunt cele roșii din sânge (eritrocitele).

Glicoliza este calea principală de a metaboliza atât glucoza cât și fructoza, galactoza sau alți carbohidrați proveniți din dietă. Capacitatea glicolizei de a produce ATP chiar și în absența oxigenului are o importantă deosebită, permițând mușchilor scheletici să funcționeze la un randament înalt chiar atunci când aportul de oxigen este insuficient, asigurând astfel supraviețuirea țesutului în perioadele anoxice. Pe de altă parte, mușchiul cardiac, fiind adaptat pentru performanțe aerobice, are o activitate glicolitică și o capacitate de supraviețuire relativ mică în condiții de privare de oxigen. Țesuturile implicate în activități intense și rapide (mușchiul pectoral la păsări) sunt mai deschise la culoare, în timp ce țesuturile implicate în activități mai ușoare, dar de durată (mușchiul piciorului) sunt închise la culoare (mușchiul roșu). Culoarea cărnii închise provine de la fierul prezent în proteine numite citocromi și implicate în faza finală a catabolismului glucozei, după ciclul Krebs. În aceste țesuturi, metabolismul glucozei este predominant aerob, ea fiind transformată complet în CO_2 și apă. În contrast, mușchiul deschis la culoare conține puține mitocondrii, glucoza fiind metabolizată doar prin glicoliză, deci incomplet, cu randament mai mic – însă mai rapid. Compoziția mușchilor atleților reflectă tipul de sport pe care aceștia îl practică. Mușchii piciorului unui adult conțin cam jumătate din fiecare tip descris mai sus. Un sprinter are o cantitate mai ridicată de mușchi albi, în timp ce un maratonist are în jur de 90% mușchi roșu.

Medical, deficiențele în enzime implicate în glicoliză se reflectă adesea în hemoliză (celulele roșii se distrug prea ușor) și oboseala musculară. Pe de altă parte viteza ridicată de funcționare a glicolizei în celule canceroase depășește mult capacitatea ciclului Krebs de a metaboliza produsul acesteia, acidul piruvic (AP). Ca urmare, pe baza energiei acumulate în exces în celulă AP este transformat în acid lactic și contribuie astfel la creșterea acidității mediului respectiv. Con tracția mușchilor în condiții anaerobe de asemenea produce acid lactic, a cărui acumulare dă senzația de febră musculară. De asemenea, această reacție poate fi produsă de unele bacterii, în procese ca fermentarea laptelui sau iaurtului. Nu în ultimul rând, tot în condiții anaerobe AP este transformat de unele microorganisme în alcool etilic („fermentația alcoolică”).

6.1.2. *Ciclul Krebs (ciclul acizilor tricarboxilici, ciclul acidului citric)*

Ciclul Krebs reprezintă un punct central în metabolismul aerob celular al oricărei molecule care poate fi transformată într-o grupare din doi atomi de carbon („acetil”) – fie ea

lipidă, glucidă, proteină. El nu reprezintă doar punctul final al oxidării aerobice a carbohidraților, lipidelor și proteinelor, ci este o sursă importantă de precursori ai aminoacizilor, acizilor nucleici, colesterolului și altele, având un rol important în gluconeogeneză (sinteza de glucoză) și lipogeneză (sinteza de lipide). Deși aceste procese se desfășoară în multe tipuri de țesuturi, intensitatea maximă a acestora are loc la nivelul ficatului. Enzimele ciclului acidului citric sunt localizate în mitocondrii, fie libere fie atașate de membrana internă (mitocondria este delimitată de două membrane proprii, una externă și una internă, așa cum se vede în Figura 14).

Ciclul Krebs constă într-o serie de reacții de oxidare, care rezultă în transformarea celor doi atomi de carbon proveniți din nutrienți în două molecule de CO_2 . În acest proces se produce și o cantitate relativ mică de ATP; majoritatea energiei degajate prin oxidare în ciclul lui Krebs este însă stocată sub forma electronilor proveniți de pe atomii de carbon ai glucozei și ajunși acum pe moleculele NAD și FAD. Acești electroni sunt apoi transferați către pasul următor de prelucrare: „lanțul transportor de electroni”.

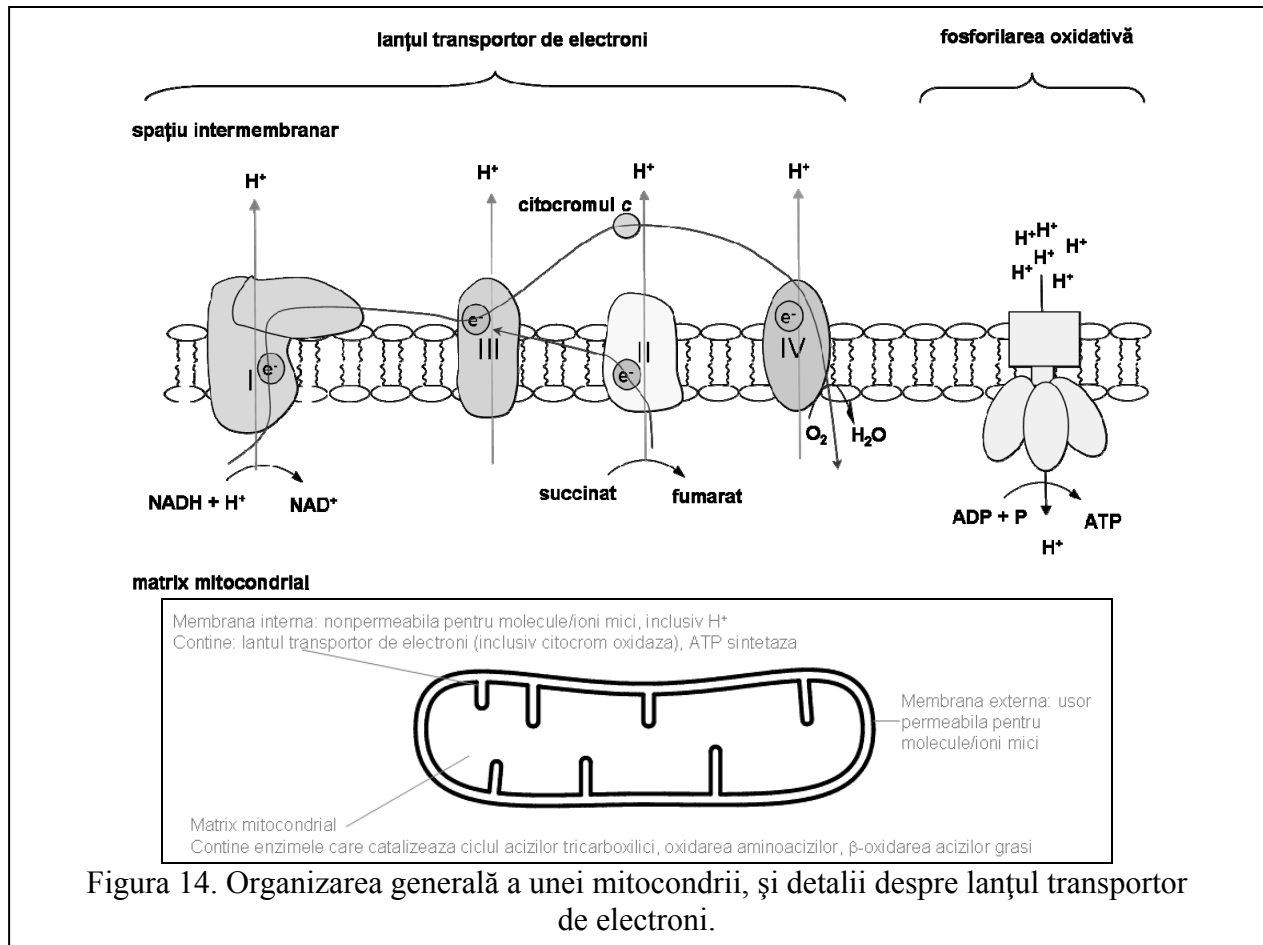
6.1.3. Lanțul transportor de electroni și fosforilarea oxidativă

În urma glicolizei, a ciclului Krebs și a oxidării acizilor grași, rezultă electroni bogați în energie, stocați pe molecule de NAD și FAD. Acești electroni sunt apoi cedați către o serie de proteine localizate în membrana internă mitocondrială și numită „lanțul transportor de electroni” (vezi Figura 14; se folosește și termenul „catenă” în locul celui de „lanț”), care pe măsură ce îi transportă le extrag energia și o folosesc pentru pomparea protonilor afară din matrixul mitocondrial și către spațiul intermembranar. Distribuția inegală de protoni astfel generată este o formă de energie, care este folosită pentru sinteza ATP. Mai exact, ATP-ul este sintetizat atunci când protonii pătrund din spațiul intermembranar înapoi în matrix, printr-o enzimă numită ATP-ază; această formă de sinteză a ATP se numește și „oxidativă”, și ea este responsabilă pentru peste 90% din ATP-ul sintetizat în organismele noastre.

Electronii înșiși, odată ajunși la finalul traseului din lanțul transportor de electroni, au deja o energie mult redusă după ce ea a fost cheltuită pentru acumularea de protoni în spațiul intermembranar. Se pune prin urmare problema eliminării lor din sistem prin plasarea pe o moleculă „coș de gunoi”. Această moleculă trebuie să îndeplinească două condiții: să poată accepta electroni fără a genera produși toxici, și să se găsească în abundență. În cazul organismelor aerobe, inclusiv a oamenilor, această moleculă este oxigenul molecular, O_2 : acceptând electroni, el devine apă, H_2O . Există însă și organisme (în special bacterii) care folosesc alte molecule în locul oxigenului – ca de exemplu azotat, sulfat, sau chiar săruri anorganice insolubile („piatră”). În plus, însăși transformarea oxigenului în apă este o reacție exergonică, energia ei fiind de asemenea folosită pentru generarea de energie prin pompare de protoni așa cum s-a descris mai sus. Seria de procese descrise aici este denumită generic „respirație”.

Transformarea O_2 în H_2O la nivelul ultimei proteine din lanțul transportor de electroni este un proces foarte sensibil; proteina respectivă, numită citocrom oxidaza și conținând fier, este blocată foarte eficient de otrăvuri ca monoxidul de carbon sau cianura, care astfel blochează total respirația.

În total, ciclul lui Krebs, lanțul transportor de electroni și ATPaza generează 38 ATP/glucoză consumată, spre deosebire de doar 2 ATP obținuți în etapa anterioară, și anume glicoliza. Se pot astfel constata, cu ușurință, avantajul enorm al metabolismului aerob, desfășurat în medii bine oxigenate.



6.1.4. Calea pentozo-fosfaților și alte căi ale metabolizării hexozelor

O cale alternativă de metabolizare a glucozei este calea pentozo-fosfaților. Ea nu generează ATP, dar prezintă alte două funcții majore: este unicul mod de generare al NADPH, necesar pentru sinteza acizilor grași și a sterolilor, și servește la sinteza acizilor nucleici. Calea pentozofosfaților este foarte activă în celulele roșii ale mamiferelor. Aici, NADPH produs servește ca sursă de electroni pentru o enzimă care luptă împotriva stresului oxidativ (definit în capitolele anterioare), ca și pentru menținerea fierului din hemoglobină la forma Fe^{2+} , singura capabilă să transporte O_2 (altfel, fierul tinde să se oxideze, și devine incapabil să transporte oxigen).

Catabolismul altor carbohidrați implică transformarea lor în intermediari din glicoliză. Prin dietă, organismul primește o cantitate mare de dizaharide ca lactoza, manoza și zaharoză. Primul pas în utilizarea acestora este reprezentat de conversia acestora în monozaharide; deficiența în enzime necesare acestor căi poate cauza o varietate de probleme intestinale (ca de exemplu intoleranța la lactoză datorită lipsei lactazei).

6.1.5. Catabolismul acizilor grași

Principalele rezerve energetice ale organismelor animale sunt reprezentate de grăsimile *insolubile*, depozitate în țesuturile adipoase (triacilglicerolii). Degradarea și sinteza acizilor grași se desfășoară la nivelul țesuturilor adipoase în multe organe, dar intensitatea maximă este atinsă

la nivelul ficatului. Separarea spațială a celor două procese (biosinteza lipidelor în citosol, iar catabolismul în mitocondrie) permite un control individual, ca răspuns al necesității țesutului.

Pentru obținerea energiei, lipidele trebuie să fie mai întâi mobilizate din depozitele țesuturilor adipoase. În acest proces, triacilglicerolii sunt degradați la acizi grași și glicerol, în procesul de lipoliză, catalizat enzimatic de către lipaze, enzime aflate sub control hormonal (adrenalina, glucagonul, insulina, etc). Mai apoi, acizii grași sunt tăiați în bucăți de câte doi atomi de carbon, care sunt apoi supuse ciclului lui Krebs sau pot să fie transformate, la nivelul ficatului, în „corpi cetonici” (acetonă, acetoacetat, 3-hidroxiacetat) care servesc ca surse de energie majoritară pentru unele țesuturi, în special în condiții de deficit de glucoză.

6.1.6. Catabolismul proteinelor

În fiecare zi, 1-2% din totalul proteinelor corpului se reînnoiesc, în special cele din țesuturile musculare. Degradarea proteinelor are loc cu o frecvență mult mai mare în țesuturile în care se produc rearanjări structurale permanente (ou, țesutul uterin în timpul gravidității, musculatura scheletului în timpul înfometării, etc). Dintre aminoacizii eliberați în astfel de degradări, aproximativ 75% sunt reutilizați. Excesul de aminoacizi, provenit fie din degradarea proteinelor, fie dintr-o dietă bogată în proteine, dacă nu este utilizat în biosinteza unor noi proteine, este degradat rapid. Azotul provenit din acest exces este transformat în uree, iar scheletul carbonic este utilizat pentru sinteza carbohidraților și a lipidelor sau pentru producerea ATP-ului. De asemenea, în timpul înfometării sau în cazul diabetului zaharat, când carbohidrații nu sunt disponibili sau sunt utilizați într-un mod necorespunzător, ca surse energetice sunt folosite proteinele celulare.

Degradarea proteinelor la aminoacizi este realizată cu ajutorul unor enzime specifice, de tipul proteazelor și peptidazelor. Acestea nu se găsesc numai în tractul digestiv (pepsina, tripsina, chimotripsina), ci sunt prezente și în interiorul celulei.

6.1.7. Degradarea aminoacizilor

Degradarea aminoacizilor are loc cu precădere în ficat. Primul pas în catabolismul celor mai mulți aminoacizi constă în îndepărtarea atomilor de azot. Un rol important în acest proces îl are glutamatul, molecula care preia azotul de pe un aminoacid. Scheletul carbonic astfel rezultat va suferi modificări ulterioare care vor duce la obținerea unor precursori ai glucozei și intermediari ai acidului citric.

NH₃ (amoniacul), forma sub care este eliminat azotul din aminoacizi, este relativ toxic, provocând la concentrații ridicate afecțiuni, în special, ale creierului. Din acest motiv, organismul prezintă mecanisme prin care amoniacul este inactivat și excretat. Astfel, amoniacul este transformat în uree, în ciclul uric, care se desfășoară numai la nivelul ficatului, cu debut în mitocondrie și finalizare în citosol.

6.2. Anabolismul

6.2.1. Gluconeogeneza

Unele țesuturi ale mamiferelor (țesutul nervos, țesutul embrionar, eritrocitele, medulara renală, etc) depind în întregime de glucoza din sânge pentru metabolismul energetic. Numai creierul are nevoie, într-o zi, de mai mult de jumătate din glucoza depozitată sub forma glicogenului în mușchi și ficat. Mobilizarea glucozei din aceste rezerve nu este întotdeauna suficientă; în perioada dintre mese, după un post mai lung sau un efort intens, rezerva de glicogen se epuizează și este activată o altă cale de generare a glucozei, din precursori nonzaharici. Ficatul

este organul principal responsabil pentru gluconeogeneză, dar aceasta se poate produce și la nivelul rinichilor. Principalii precursori ai glucozei sunt aminoacizii, proveniți din proteinele musculare, lactatul, care se formează în eritrocite și în mușchi din piruvat în absența oxigenului, iar un al treilea precursor important este glicerolul, produs ca urmare a degradării grăsimilor.

Multe din reacțiile catalizate în gluconeogeneză sunt catalizate de aceleași enzime care sunt prezente în glicoliză. Altele sunt specifice gluconeogenezei și sunt sintetizate sub acțiunea unor hormoni (cortizol și glucagon), atunci când este nevoie. Spre deosebire de glicoliză, care se produce numai în citosol, gluconeogeneza poate avea loc și în mitocondrie și în reticulul endoplasmatic. Pentru realizarea acestui proces este nevoie de consum de ATP.

Intensitatea glicolizei este determinată de concentrația glucozei, iar intensitatea gluconeogenezei este determinată de concentrația lactatului și a altor precursori ai glucozei. De asemenea, o cantitate ridicată de AMP (adenozin monofosfat) indică o încărcătură energetică mică în celulă și declanșează semnalul pentru generarea ATP (adenozin trifosfat); în schimb, o concentrație mare de ATP indică o încărcătură energetică ridicată și o abundență de intermediari bio-sintetici – condiții în care glicoliza este oprită iar gluconeogeneza este stimulată.

Aminoacidul alanină, la fel ca lactatul, este precursorul majoritar al glucozei și se formează din acid piruvic, la nivelul mușchilor. După un efort fizic intens, în musculatura scheletică se acumulează o cantitate mare de acid piruvic, astfel încât ciclul Krebs nu face față oxidării întregii cantități. În aceste condiții, celula reduce piruvatul la lactat. Acesta este transportat prin intermediul sângelui la ficat, unde va fi transformat ulterior în piruvat, acesta din urmă fiind convertit în glucoză, pe calea gluconeogenetică. Acest parcurs al acidului lactic-acid piruvic-glucoză-acid piruvic-acid lactic poartă denumirea de ciclu Cori.

Activitatea acestor sisteme de reacții este supusă și controlului hormonal. Spre exemplu, nivelul insulinei crește imediat după mâncare și stimulează glicoliza, în timp ce glucagonul crește în timpul înfometării și controlează producerea enzimelor gluconeogenezei.

6.2.2. Biosinteza lipidelor

Biosinteza acizilor grași are loc în citoplasmă în special la nivelul ficatului și necesită aport de electroni aduși de transportorul NADPH (generați în calea pentozofosfaților). Acizii grași sunt apoi atașați de glicerol pentru a forma acilgliceroli. Pentru a ajunge la țesuturile periferice, grăsimile sunt împachetate de către ficat în complexe alături de proteine (*lipoproteice*, ca de exemplu VLDL – very low density lipoprotein, LDL – low-density lipoprotein), care sunt eliberate în sânge.

Lipogeneza este reglată de o gamă largă de metaboliți și hormoni, care includ insulina, glucagonul și adrenalina.

Colesterolul este un component important al membranei celulare și, totodată, precursorul hormonilor steroizi (glucocorticoizi, mineralocorticoizi și hormoni sexuali) și ai acizilor biliari. Organismul animal obține colesterol din dietă dar în același timp și-l sintetizează și singur, pornind de la aceleași unități simple de doi atomi de carbon (acetil) ca și în sinteza glucozei, acizilor grași, etc.

6.2.3. Sinteza aminoacizilor

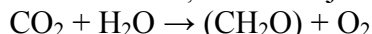
Aminoacizii sunt „cărămizile” din care sunt alcătuite proteinele, fiind, totodată, surse importante de azot pentru multe alte molecule, incluzând nucleotide, neurotransmițători sau grupări prostetice, ca porfirinele. Scheletul carbonic al aminoacizilor provine din glicoliză, din calea pentozofosfaților sau din ciclul acizilor carboxilici, iar azotul, sub forma amoniacului,

provine dintr-una din cele mai remarcabile reacții din biochimie: fixarea azotului din atmosferă de către microorganisme. Înainte de a intra în circuitul natural al azotului, N_2 atmosferic trebuie să fie transformat într-o formă mai reactivă, NH_3 . Problema aceasta este rezolvată de către nitrogenaze, enzime prezente într-o gamă foarte redusă de bacterii și alge verzi, unele simbiotice cu anumite plante (leguminoase). Următorul pas al asimilării azotului în biomolecule este reprezentat de intrarea azotului în structura aminoacizilor prin intermediul a două molecule cu rol cheie: glutamatul și glutamina. Grupările amino ale tuturor aminoacizilor provin din gruparea amino a glutamatului, prin transferul acesteia după caz.

În funcție de calea bio-sintetică, aminoacizii se împart în cinci familii, membrii fiecărei familii provenind de la un precursor comun. Spre deosebire de plante și microorganisme, mamiferele își pot sintetiza doar jumătate din cei 20 de aminoacizi. Restul, numiți aminoacizi esențiali (aminoacizii aromatici cu excepția tirozinei, leucina, valina, izoleucina, treonina, lizina și metionina) trebuie să provină din dietă. Valoarea nutritivă a proteinelor depinde mult de conținutul în aminoacizi esențiali. De exemplu, proteinele vegetale provenite din cereale conțin cantități reduse de lizină și metionină, spre deosebire de proteinele animale care conțin o cantitate echilibrată din fiecare aminoacid. Totuși, sunt unele plante (leguminoasele) care pot produce valori ridicate de proteine (soia).

6.2.4. Fotosinteza

Marea majoritate a energiei consumată de organismele vii provine de la soare și este captată prin procesul *fotosintezei*. În acest mod, energia luminoasă este folosită pentru a produce substanțe organice din CO_2 și apă, conform ecuației de mai jos:



Această proprietate a organismelor autotrofe (plante, alge, unele bacterii) este exploatată de către organismele heterotrofe (animalele), care sunt dependente de substanțele organice nutritive furnizate prin dietă. De asemenea, oxigenul atmosferic, care este vital pentru supraviețuirea organismelor superioare, derivă din fotosinteză.

Mecanismul fotosintezei este complex și presupune interacțiunea a numeroase proteine și a unor molecule mai mici. La plantele verzi, fotosinteza se desfășoară în membranele cloroplastelor, organite celulare extrem de similare mitocondriilor. Energia luminoasă captată de molecule pigment (clorofile, carotenoide) este folosită inițial pentru a îmbogăți în energie electronii acestor pigmenți; acei electroni vor fi folosiți apoi pentru a produce NADPH și ATP, după mecanisme extrem de similare celor discutate anterior în mitocondrie pentru lanțul transportor de electroni (deplasare de ioni H^+ , ATPază). Aceste molecule sunt apoi folosite pentru a activa dioxidul de carbon din aer și a-l încorpora într-o glucidă, printr-o serie de reacții numite ciclul Calvin.

7. Aspecte de nutriție

Rolul alimentelor în organism este direct legat de metabolism; alimentele sunt materia primă prin care se îndeplinesc cele două funcții ale metabolismului:

- Funcția anabolică – nutrienții din alimente sunt folosiți pentru obținerea de compuși care au rol în construirea sau regenerarea de celule, țesuturi etc.
- Funcția catabolică – nutrienții sunt arși la nivel celular în scopul obținerii de energie

O dietă sănătoasă trebuie să asigure îndeplinirea celor două funcții; ea trebuie să fie diversificată astfel încât să respecte necesarul organismului. Atât lipsa unor nutrienți cât și aportul excesiv al acestora poate duce la probleme de sănătate. În cele ce urmează sunt trecute în revistă câteva aspecte ale acestui subiect, fără a se da o lista exhaustivă de nutrienți sau programe alimentare.

Necesarul energetic

Necesarul energetic (caloric) reprezintă cantitatea de energie necesară organismului pentru menținerea compoziției și greutateii corporale, parcurgerea diferitelor perioade fiziologice și desfășurarea activităților fizice și intelectuale cu păstrarea pe termen lung a stării de sănătate. Aportul caloric optim variază în funcție de vârstă, sex, stări fiziologice sau patologice (ex. crescut în stări febrile, traumatisme, malabsorbție și scăzut în obezitate și hipotiroidism), activitate fizică (ex. sportivii).

Carbohidrații

Carbohidrații sau glucidele sunt o sursă de energie ușor accesibilă. În alimentație glucidele sunt prezente ca monozaharide în fructe și miere (glucoză, fructoză), dizaharide în lapte și produse îndulcite cu zahăr (lactoză, zaharoză, maltoză) și polizaharide de origine vegetală (amidon) sau animală (glicogen). Într-o dietă normală este recomandat ca glucidele să acopere aprox. 55-60% din necesarul caloric zilnic prin consumul de cereale și produse din cereale, fructe, legume și produse zaharoase, cu mențiunea că produsele zaharoase nu trebuie să depășească 4-10% din necesarul energetic.

O clasă de polizaharide nedigerabile sunt componente importante în „fibre” – materiale alimentare care deși nu aduc un aport energetic substanțial sunt importante în alimentație deoarece determină sațietatea reducând tendința de supraalimentare (prin stimularea secreției de suc gastric și întârzierea evacuării stomacului), participă la eliminarea unor substanțe toxice din intestinul gros, reduc riscul de constipație prin retenția de apă și furnizează elemente nutritive pentru celulele intestinale (prin degradarea acestora de către bacteriile din tractul digestiv). O parte din „fibre” pot fi chiar parțial digerabile. Pe lângă glucide, fibrele pot conține și alte materiale, inclusiv polimerice, iar adsorbite pe acești polimeri pot rămâne și componente cu valoare nutritivă directă (vitamine, etc.).

Lipidele

Principalul rol al grăsimilor în alimentație este cel energetic, furnizând de două ori mai multă energie decât glucidele și proteinele. Lipidele sunt de asemenea esențiale în biosinteza hormonilor steroidieni și aportul de vitamine liposolubile.

În alimente lipidele sunt prezente în cantități mari ca fosfolipide, colesterol și lipide simple; lipidele simple se găsesc ca acizi grași saturați în unt, cașcaval, smântână, gălbenuș, ca acizi grași mono-nesaturați în ulei de măsline, nuci, avocado și ca acizi grași polinesaturați în

floarea soarelui, porumb sau pește. Acizii grași polinesaturați sunt acizi grași esențiali având rol în funcționarea sistemului nervos central și a inimii prin efectul antiaterogen. Într-o dietă echilibrată se recomandă ca lipidele ingerate să acopere 20-30% din necesarul caloric.

Proteinele

Consumul de proteine asigură necesarul de aminoacizi utilizați pentru sinteza proteinelor. Proteinele sunt esențiale în alimentație deoarece furnizează organismului aminoacizi esențiali (ex. treonină, triptofan, valină, izoleucină). Principalele surse de proteine sunt carnea, produsele lactate, ouăle, fasolea și soia. Pe de altă parte, ele pot fi și surse utile de energie.

Vitaminele

În general o dietă sănătoasă acoperă necesarul zilnic de vitamine, însă în cazurile de malnutriție, tulburări de resorbție sau tratamente care distrug flora intestinală apar hipovitaminozele sau în cazuri extreme avitaminozele.

Vitamina A.

Formele fiziologic active ale vitaminei A sunt moleculele de retinal și de acid retinoic. Primul are un rol în captarea luminii la pigmentii vizuali din ochi și inițierea unui impuls nervos, iar al doilea controlează creșterea și menținerea normală a epitelilor și mucoaselor. Unii pigmenti din familia carotenoidelor, precum carotenul, pot fi transformați în retinal și au de aceea o importantă nutrițională deosebită – alimentele care îi conțin în cantități mari fiind principala sursă de materie primă pentru vitamina A.

Deficiențele ușoare de vitamina A produc tulburări de adaptare la vederea nocturnă, distorsionarea vederii în culori, tulburări de auz, miros, echilibru. Deficiențele severe și prelungite duc până la orbire ireversibilă. Lipsa de vitamina A este una dintre cauzele morții infantile prin creșterea susceptibilității la infecții datorate deficiențelor la nivelul țesutului epitelial.

Vitamina E

Vitamina E este de fapt un întreg grup de compuși chimici, dintre care tocoferolii sunt cei mai cunoscuți. Ea este localizată în principal în membrane, unde își manifestă o activitate de agent antioxidant dar este implicată și în semnalizarea celulară, modularea expresiei genelor și inhibiția proliferării celulelor.

Principalele surse de vitamina E sunt plantele verzi (tocoferolii sunt componenți importanți ai membranelor cloroplastelor), semințele, germenii de grâu și gălbenușul de ou. Din cantitatea totală de tocoferoli ingerată doar 20-40% este absorbită de intestin alături de alte grăsimi din dietă. Vitamina E este transportată la ficat unde este preluată de o proteină de transfer și exportată spre lipoproteinele cu densitate foarte mică (VLDL) alături de care este eliberată în fluxul sanguin.

Deficiența de vitamina E este întâlnită rar datorită depozitelor din țesuturi, fiind dezvoltată de copiii născuți prematur și de persoanele suferind de fibroză cistică, boli hepatobiliare cronice, malabsorbție severă a lipidelor sau defecte genetice de sinteză a VLDL sau proteină de transport a tocoferolului.

Vitamina K

Principala funcție a vitaminei K este carboxilarea unor proteine implicate în coagularea sângelui, dar este implicată și în proteine din spațiul intermembranar al mitocondriilor unde are rol în acumularea calciului, în oase sau în sistemul nervos. Deficiența de vitamina K are ca efect creșterea timpului de coagulare ca rezultat al sintezei scăzute a proteinelor dependente de vitamina K.

Vitamina B₁ – Tiamina, TPP

Are rol în metabolismul glucidelor și al unor aminoacizi (ex. leucină, izoleucină, valină). De asemenea TPP-ul este implicat în calea pentozofosfaților și transmiterea impulsului nervos.

Vitamina B₁ se află în alimente (nuci, cereale integrale, drojdie, carne, ficat). Necesarul de tiamină se calculează în funcție de cantitatea de glucide și proteine consumate, fiind necesare pentru funcționarea corectă a organismului 0.5 mg tiamină/ 1000 kcal.

Lipsa de vitamina B₁ cauzează beriberi, o boală a sistemului nervos caracterizată de pierderi de memorie și nistagmus (mișcări neregulate și sacadate ale ochilor). Deficiența de vitamina B₁ provoacă pierderi în greutate, crampe musculare sau contracții neregulate ale inimii.

Vitamina B₂ – riboflavina – FAD și FMN

Riboflavina este vitamină hidrosolubilă cu structură flavinică al cărei rol principal este de coenzimă în numeroase reacții de transfer de electroni ale proceselor metabolice. Formele metabolice active sunt flavin mononucleotida (FMN) și flavin adenin dinucleotida (FAD). FAD îndeplinește funcția de cofactor proteine sensibile la lumina albastră implicate în reglarea ritmului circadian (sistemul prin care celulele țin evidența timpului).

Vitamina B₂ se găsește în alimente precum drojdia, produsele lactate, carnea, cerealele, dar este sintetizată și de bacteriile din intestin. Avitaminaza B₂ este relativ comună și se manifestă prin stomatită, oboseală, crampe musculare, dermatită seboreică și uneori conjunctivită.

Vitamina B₃, sau PP - Niacina

Niacina (sau niacotinamida) este precursorul și entitatea reactivă a NAD (nicotinamid dinucleotida) și NADP (nicotinamid adenin dinucleotid fosfat), care participă în reacții care necesită transportul simultan de protoni și electroni din metabolism, calea pentozo-fosfaților, biosinteza acizilor grași. NAD este precursorul unor mesageri secundari în reglarea metabolismului calciului.

Lipsa de niacină provoacă apariția pelagrei, o boală caracterizată de dermatită fotosensibilă. În cazurile severe de pelagră alături de leziunile pielii apar tulburări neurologice (ex. depresie psihotică) și gastro-intestinale (ex. diaree acută).

Vitamina B₆ – Piridoxalul

Termenul de vitamina B₆ se referă la 6 compuși îndeaproape înrudiți. Principalul ei rol este în reacții asupra aminoacizilor (de exemplu, de transaminare), cu implicații pentru căi metabolice diverse - sinteza porfirinelor utile pentru pigmentul roșu din sânge, metabolismul acidului linoleic, sinteza colesterolului și a fosfolipidelor, sinteza niacinei, reglarea activității hormonilor steroidieni.

Necesarul zilnic de vitamină B₆ este asigurat atât prin consumarea alimentelor precum peștele, carnea de pasăre, bananele, fasolea, cerealele cât și prin aportul adus prin sinteza acestora

de bacteriile din flora intestinală. Carențele severe sunt rare și se manifestă cu convulsii la copii, anemii feriprive, leziuni ale pielii.

Vitamina B₉ - Acidul folic

Acidul folic este esențial în sinteza bazelor azotate din componența ADN-ului, intervine în maturarea celulelor stem din măduva osoasă fiind important în formarea eritrocitelor. Rolul acidului folic este transferul grupărilor conținând un atom de carbon atât în reacții catabolice cât și de biosinteză.

Lipsa de acid folic este asociată cu hipercisteinemie, depresie, irascibilitate sau probleme de memorie.

Vitamina B₁₂

Vitamina B₁₂ este un compus pe bază de cobalt. Ea permite formarea unor legături neobișnuite metal-carbon, rare în biochimie, și este implicată în enzime ce catalizează traficul atomilor de carbon sau rearanjarea lor în interiorul moleculelor.

Principalele surse alimentare de vitamina B₁₂ sunt carnea, ouăle și produsele lactate. Carența de vitamina B₁₂ sau acid folic cauzează anemie megaloblastică, boli psihice, insomnie.

Biotina (Vitamina H)

Biotina este o coenzimă implicată în gluconeogeneză, sinteza acizilor grași și catabolismul aminoacizilor. Necesarul zilnic de vitamina H poate fi acoperit prin consumul unei varietăți mari de alimente, printre care se află gălbenușul de ou, alunele, nucile și ficatul.

Carența de biotină este rar întâlnită fiind cauzată în majoritatea cazurilor de consumul de albuș nepreparat (albușul conține avidină, o proteină cu afinitate mare pentru biotină, care astfel scoate biotina din circulație). Principalele simptome ale lipsei de vitamina H sunt alopecia (căderea părului), conjunctivita, dermatita, halucinații sau stări letargice.

Acidul pantotenic (Vitamina B₅)

Acidul pantotenic este implicat în metabolismul glucidelor și lipidelor, ca grupare funcțională a *coenzimei A*, în biosinteza acizilor grași, în biosinteza steroidelor, porfirinelor și acetilcolinei și altele.

Acidul pantotenic se găsește în aproape toate alimentele și este produs și de bacteriile florei intestinale, astfel încât cazurile de deficiență de vitamina B₅ sunt izolate.

Vitamina C (Acidul ascorbic)

Acidul ascorbic are rol bine definit în clase de enzime care se ocupă cu producerea moleculelor precum collagenul din țesutul conjunctiv, pentru a le menține elasticitatea și rezistența mecanică, dar are legătură și cu enzimele detoxifiante din ficat sau cu absorbția intestinală a fierului, și funcționează ca agent protector împotriva stresului oxidativ discutat în capitolele anterioare.

Alimente bogate în vitamina C sunt citricele, ananasul, cartofii, varza, conopida, ardeiul verde, broccoli, căpșuna sau fructul de kiwi. Sărurile acidului ascorbic sunt utilizate ca aditivi alimentari. Beneficiile vitaminei C și disponibilitatea ei, și faptul că este bine cunoscută pentru rolul său protector, face ca în unele cazuri să se administreze excese. Ca și în alte cazuri de suplimente nutritive cu caracter antioxidant, excesul de vitamina C provoacă un stres *oxidativ* în organism (compusul dobândește acțiune opusă celei pe care o avea când era administrat în doze

mici); în principiu, acest stres poate acționa ca un „vaccin”, care să activeze apoi răspunsul natural al corpului.

Lipsa de vitamina C produce scorbutul - caracterizat prin iritabilitate, stare anxioasă, pseudoparalizie prin dureri musculare, hemoragii gingivale datorită fragilității vasculare, iar în cazurile avansate apar dureri osteoarticulare, cauzate de demineralizarea acestora ca rezultat al producerii anormale a colagenului.

Carnitina

Carnitina este o substanță relativ simplă care transportă acizi grași din citosol în matrixul mitocondrial. Deși organismul uman este capabil să sintetizeze carnitină pentru a acoperi necesarul zilnic, alimentația săracă în lizină și metionină (aminoacizi din care se produce carnitina) sau acidimiile provoacă pierderea carnitinei fiind astfel recomandat consumul alimentelor bogate în carnitină (ex. peste, carne de vită, lapte integral).

Fierul

Fierul este un element esențial pentru organism, intrând în alcătuirea unor proteine implicate în transportul și stocarea oxigenului sau în diferite procese redox aferente căilor metabolice esențiale. De exemplu, el se găsește în toate componentele lanțului transportor de electroni din respirație, și în mioglobină și hemoglobină. Necesarul zilnic de fier, ~ 20 mg/zi, poate fi asigurat prin consumul unei game destul de variate de alimente, fiind absorbit la nivelul intestinului iar apoi transportat spre diferite țesuturi și organe unde este stocat și utilizat (ex. în mușchi pentru sinteza mioglobinei, în măduva osoasă pentru sinteza eritrocitelor).

Principalele cauze ale deficienței de fier sunt alimentația inadecvată (ex. dieta bazată pe produse lactate), absorbția deficitară, aclorhidria (pierderea sau diminuarea secreției gastrice) și hemoragiile. Deficiența de fier evoluează spre anemie ferodeficitară în trei stadii: scăderea rezervelor de fier fără afectarea funcțiilor, eritropoieză deficitară (scăderea capacității de formare a celulelor roșii) și anemie feriprivă.

8. Sistemul imunitar

Organismul uman a dezvoltat mecanisme de rezistență capabile să diferențieze între componentele proprii și cele străine, mecanisme numite generic „sistem imunitar”. El folosește atât celule specializate cât și molecule izolate (dintre care imunoglobuline sunt cele mai cunoscute); toate au ca temă generală capacitatea de a se lega cu foarte mare selectivitate de corpurile străine organismului (bacterii, virusuri, toxine, etc; ele sunt numite generic „antigeni”), și de a bloca și/sau distruge acele corpuri.

8.1. Anticorpuri (imunoglobulinele)

Anticorpuri sau imunoglobulinele (Ig) sunt proteine specializate în legarea selectivă și foarte puternică antigenilor; efectul acestei legări este de obicei inactivarea corpului străin, fie direct fie prin faptul că alte componente ale organismului îl atacă ulterior, ca rezultat al semnalului dat de anticorp. Ig sunt sintetizate în celule numite limfocite B. Există o gamă foarte variată de imunoglobuline, clasificate în cinci clase: IgG, IgA, IgM, IgD și IgE, cf. Tabelul 1.

Tabelul 1. Funcțiile imunoglobulinelor.

Tip	Concentrația în serul sanguin (mg/ml)	Funcție
IgG	12	Anticorpul majoritar în răspunsul imun secundar neutralizarea toxinelor bacteriene. Asigură protecția fătului și nou-născutului
IgA	3	Anticorpul majoritar în secreții externe (ex. salivă, mucus intestinal, bronșic)
IgM	1	Anticorpul majoritar în răspunsul imun primar. Anticorpuri grupelor sanguine, ai endotoxinei bacteriilor gram-negative
IgD	0,1	Prezente pe suprafața limfocitelor B, implicate în recunoașterea antigenelor
IgE	0,001	Prezente pe suprafața mastocitelor și bazofilelor, rol în răspunsul imun asociat parazitozelor intestinale și alergiilor. Stimulează răspunsul inflamator acut

Datorită afinității și specificității ridicate a interacțiunilor anticorp-antigen, anticorpuri sunt utilizați și în diferite proceduri analitice, în determinările fine ale unor cantități mici de antigene (tehnicele ELISA, RIA), sau în purificarea proteinelor în cromatografia de afinitate, identificarea unor medicamente în ser și urină, sau identificarea unui agent infecțios, prin reacțiile serologice care utilizează soluții de anticorpuri (seruri imune) cu specificitate cunoscută. De asemenea, mai recent, se profită de capacitatea de a se produce în laborator anticorpuri “la comandă”, astfel încât se generează anticorpuri capabili să contracareze agenți care generează boli. Se comercializează astfel în prezent anticorpuri de puritate înaltă pentru tratamentul unor boli specifice, dar și amestecuri de anticorpuri de la diferiți donatori (denumit IVIG – imunoglobuline intravenoase) cu rol mai general de suplimentare a sistemului imunitar în anumite boli.

Pe lângă anticorpuri, există numeroase alte proteine importante în sistemul imun. Printre ele sunt citokinele, care la rândul lor cuprind clase precum interleukine, interferoni, limfokine, chemokine. Spre exemplu, dintre acestea interferonul este implicat în special în atacarea virusurilor și a tumorilor. În celulele bolnave el provoacă blocarea translației/traducerii ADN,

sintezei proteinelor, și activează alte enzime, la celulele din jur sau direct la cele ale sistemului imun.

Nu în ultimul rând, există și alte molecule importante în sistemul imun, una dintre cele mai cunoscute fiind histamina; ea este implicată în procesul prin care permeabilitatea vaselor circulatorii este mărită în jurul unei zone în care anticorpii au detectat un corp străin, astfel încât celulele specializate ale sistemului imun să se poată deplasa la locul infectat. Acest fenomen provoacă, la limită, din cauza influxului de lichide care aduce celulele, creșterea în volum a zonei respective și creșterea secrețiilor. Fenomenul este notabil în cazul alergiilor – medicamentele antialergice având ca țintă importantă tocmai mecanismul bazat pe histamină (antihistaminice).

8.2. Celulele sistemului imunitar

Celulele sistemului imunitar sunt de diferite tipuri. Generic, se folosește termenul de celule albe sau leucocite. Importanța lor este ilustrată și de faptul că una dintre cele mai cunoscute boli, leucemia, e cauzată tocmai de o dereglare în funcționarea leucocitelor. Spre exemplu, limfocitele T îndeplinesc mai multe funcții printre care recunoașterea celulelor infectate și distrugerea acestora, sau reglarea activității altor celule; din această ultimă categorie fac parte limfocitelor helper (ajutătoare), care sunt „veriga slabă” pe care o atacă virusul HIV (human immunodeficiency virus), cauzând incapacitatea de apărare a organismului, SIDA (sindromul imunodeficienței dobândite). Mai multe exemple (dar nu o listă completă) sunt date în Tabelul 2.

Tabelul 2. Câteva tipuri importante de celule componente ale sistemului imun.

Tip de celulă	% în adulți	Ținte principale	Durata de viață
Neutrofile	~50-60%	bacterii, ciuperci	6 ore–câteva zile; epuizate după ce acționează asupra unui număr redus de celule
Eozinofile	<6%	paraziți mai mari, răspuns alergic	8–12 zile(circulă efectiv 4–5 ore)
Bazofile	<1%	Eliberează histamină pentru răspunsul alergic	Câteva ore până la câteva zile
Limfocite	~30%	Tip B: sintetizează anticorpi, ajută la activarea celulelor T Tip T – helper (reglare/activare alte celule) sau citotoxice (pt. celule tumorale sau infectate de virusuri) de reglare: oprire a sistemului imun la încheierea infecției Natural killer cells: celule tumorale sau infectate de virusuri	Ani de zile pentru celulele de memorie, săptămâni pentru celelalte
Monocite	<10%	Monocitele migrează din sânge către țesuturi, unde se stabilesc și devin macrofage	Ore - zile
Macrofage		Fagocitare (înghițirea și distrugerea) resturilor de celule și patogenilor; stimularea altor componente ale sistemului imunitar	activate: zile altfel – luni, ani

Erorile de producție ale limfocitelor provoacă apariția bolilor autoimune precum diabetul zaharat de tip I, artrita reumatoidă sau scleroza multiplă – în care limfocite „insuficient instruite” confundă celule proprii ale organismului cu celule străine, și provoacă procese de autodistrugere în diverse țesuturi.

8.3. *Vaccinurile și imunitatea*

Vaccinurile sunt produse biologice care conțin bacterii vii cu virulență atenuată, bacterii omorâte, toxine modificate pentru a le face benigne, virusuri infecțioase inactivate sau cu virulență atenuată. Toate acestea, introduse în organismul uman, stimulează reactivitatea imunitară, generând o stare de protecție temporară față de agentul infecțios din care au fost preparate.

Spre deosebire de vaccinuri, serurile imune sunt produse biologice obținute din serul sanguin al unui animal imunizat prin vaccinare sau de la persoanele convalescente și astfel deja conțin anticorpi specifici gata produși, capabili să neutralizeze acțiunea antigenului corespunzător. Imunitatea dobândită în urma administrării serurilor imune se instalează imediat dar asigură o protecție de scurtă durată.

Tehnici mai moderne folosesc anticorpi capabili să recunoască o celulă bolnavă, ca transportor pentru compuși utili medical, astfel încât în organism acei compuși să fie livrați imediat la celula bolnavă, fără a da efecte secundare nedorite prin interacțiunea cu celule sănătoase din întregul organism.

9. Enzimologie clinică

În general, prin „enzimologie clinică” se înțelege studiul activității enzimatice din sânge, și, mai exact, din ser. Reamintim, sângele este format din celule – în principal roșii, dar și altele – și din partea lichidă în care plutesc aceste celule, numită plasmă. Mai departe, dacă din plasmă se îndepărtează (lăsându-i să precipite/coaguleze) agenții de coagulare, se obține ceea ce se numește ser.

9.1. *Proteine serice*

După apartenență, proteinele serice se pot clasifica în trei categorii: proteine cu rol bine definit în sânge (ex. enzime implicate în coagulare), proteine exocrine și proteine intracelulare. Enzimele aparținând ultimelor două clase apar în mod normal în plasmă doar în concentrații mici; prezența lor în concentrații mari semnaleză distrugerea țesuturilor din care provin.

Analiza proteinelor serice furnizează informații cu privire la prezența unei boli, organul implicat, natura și stadiul bolii respectiv gradul de extindere al acesteia. Testele de rutină includ pe lângă măsurarea proteinelor totale, exprimată adeseori ca raport între albumină și globuline, determinarea concentrației unor enzime specializate.

Modificări ale concentrațiilor proteinelor plasmatice totale sunt datorate în principal schimbărilor care apar fie în sinteza sau în viteza de eliminare a acestora fie în volumul de distribuție (ex. în cazuri de deshidratare are loc o creștere rapidă a concentrației proteinelor serice).

Una dintre principalele metode utilizate în analiza proteinelor este electroforeza care, deși în majoritatea cazurilor nu furnizează informații suficiente pentru diagnosticarea diferitelor boli - excepție paraproteinemia (excesul de γ -globulină), reprezintă o metodă preliminară rapidă în investigarea unor condiții patologice specifice.

Albumina este cea mai abundentă proteină serică (aprox. 80% din proteinele totale) având numeroase roluri printre care menținerea presiunii osmotice și implicit a distribuției fluidelor extracelulare, transportul unor hormoni, ioni (ex. calciu), acizi grași sau medicamente. Principalele cauze ale hipoalbuminemiilor sunt diminuarea sintezei, datorată unor boli ale ficatului, malabsorbției sau malnutriției, creșterea volumului de distribuție prin hiperhidratare sau creșterea permeabilității capilarelor (în septicemii și hipoxii), sau excreție/degradare crescută (în cazuri de arsuri hemoragii, trauma, boli maligne, infecții severe).

α_1 -globulina (α_1 -antitripsina) și **α_2 -macroglobulina** sunt o proteine sintetizate de ficat cu rol în inhibarea proteazelor.

Ceruloplasmina este o α_2 -globulina cu rol în transportul cuprului; concentrația scăzută a acesteia este caracteristica bolii Wilson.

9.2. *Enzime implicate în patologia cardiacă*

(Fosfo)Creatin chinaza (CPK) este o enzimă ce funcționează ca rezervă de energie catalizând formarea de ATP prin transferul unei grupări fosfat de pe fosfocreatină pe ADP.

CPK se află în citosol sub forma a 3 izoenzime: CK-MM (preponderent în mușchii scheletali), CK-MB (în mușchiul cardiac alături de MM) și CK-BB (în creier). Investigarea CPK se utilizează în diagnosticarea infarctului miocardic și a evoluției post-infarct, excluderea infarctului miocardic în traume toracice sau a distrugerilor miocardice la pacienții cu intoxicații severe, controlul post-operator al intervențiilor pe cord.

Lactat dehidrogenaza (LDH) este o enzimă care catalizează reacția reversibilă de transformare a acidului piruvic în acid lactic și se prezintă sub cinci forme, notate LDH1-LDH5, care diferă între ele ca locație - fie la miocard și eritrocite, fie la ficat și mușchi scheletali, fie la rinichi și pancreas, etc.

Valori LDH mărite se întâlnesc în cazul unor afecțiuni precum infarctul miocardic, pulmonar sau renal, accidentul vascular cerebral, anemia megaloblastică sau hemolitică, pancreatită, hipotiroidism, afecțiuni vasculare.

9.3. *Analize în explorarea ficatului*

Ficatul joacă un rol important în metabolismul glucidelor, lipidelor și proteinelor, în procesele de coagulare, detoxifiere (metaboliți, medicamente), inactivarea unor hormoni. Apariția diferitelor leziuni la ficat (inflamații, necroze, fibroză, coleostazie) poate fi detectată prin determinarea concentrațiilor diferitelor enzime sau substanțe sintetizate sau metabolizate de ficat.

Alanin aminotransferaza (ALT) și **aspartat aminotransferaza (AST)** sunt cele mai abundente enzime din ficat, având rol în metabolismul glucidelor și aminoacizilor în cataliza reacțiilor de transaminare.

Alcalin fosfatasa (ALP) un grup de enzime hidrolitice cu rol în clivarea legăturii fosfat în diferite molecule (nucleotide, proteine) este larg distribuită în organism regăsindu-se în concentrații mari în ficat, oase, rinichi, placentă și intestine. Valorile plasmatice ridicate pot indica obstrucția canalelor hepatobiliare sau diferite boli ale oaselor ca rahitism, boli neoplastice în metastaze osoase sau vindecarea fracturilor.

γ - glutamiltransferaza (GGT) este o enzimă localizată în principal în ficat, pancreas și tuburile renale fiind implicată în transferul aminoacizilor prin membrană. Activitatea enzimei e afectată de prezența alcoolului și a medicamentelor din clasa barbituricelor, motiv pentru care este utilizată ca marker în diagnosticul cirozei induse de consumul de alcool.

Albumina serică este un indicator primar al capacității de sinteză a ficatului. Deoarece timpul de viață al albuminei este de aprox. 20 zile, instalarea hipoalbuminamiei este lentă chiar și în cazul întreruperii bruște a sintezei, indicând fie o afecțiune cronică fie una acută severă a ficatului.

Colinesteraza este enzima care hidrolizează legătura esterică din moleculele care conțin colină (ex. acetilcolina eliberată la nivelul terminațiilor nervoase pentru medierea transmiterii impulsului neuronal). În organism se prezintă sub mai multe forme, cele mai importante fiind cea prezentă în eritrocite, plămâni, splină, materia cenușie, terminațiile nervoase cu specificitate absolută (hidrolizează doar acetilcolina) și cea prezentă în ficat, pancreas, ser, materia albă a creierului. Din punct de vedere clinic, analiza colinesterazei este importantă în diagnosticarea și gestionarea cazurilor de otrăviri cu pesticide și inhibiției datorate anesteziei.

Bilirubina nu este o proteină, ci un compus relativ simplu rezultat la descompunerea hemului provenit în principal din hemoglobină. Fiind insolubilă în apă, bilirubina este transportată prin plasmă legată de albumină, apoi preluată de ficat unde este mono- sau diglicozilată. Forma conjugată este excretată în bilă, apoi în intestine unde este convertită de către flora microbiană și apoi excretată prin materiile fecale (la a căror culoare contribuie) fie reabsorbită și excretată de rinichi.

Hiperbilirubenimia sau excesul de bilirubină, semnalată clinic de prezența icterului (colorația galbenă a ochilor, tegumentului și mucoaselor), este cauzată în principal de: hemoliză, disfuncții ale mecanismelor de conjugare sau obstrucția sistemului biliar. Cele mai comune cauze

în icterul acut sunt infecțiile virale (ex. hepatita A) și otrăvirea cu paracetamol sau cu diferite toxine din ciuperci.

În investigarea ficatului sunt utile și analiza timpului de coagulare a plasmei, care poate fi primul indicator al deteriorării ficatului, concentrația globulinelor serice totale – ca măsură a severității bolii, α_1 -antitripsina și ceruloplasmina – în afecțiuni specifice, anticorpi și antigeni specifici (ex. Ab HVA, Ag HBs), metaboliți (acizi biliari, uree) sau compuși metabolizați (trigliceride, colesterol).

9.4. Enzime implicate în patologia pancreasului

Pancreasul este un organ al sistemului digestiv cu funcție de producere de hormoni (insulină, glucagon tripsină, chimotripsină, carboxipeptidaze, lipaza, colipaza, amilaza). Investigarea diferitelor afecțiuni ale pancreasului se realizează prin măsurarea activității enzimelor pe care le secretă (valorile plasmatice și/sau în aspiratele duodenale) alături de imagistică (computer tomograf, ecografie).

α -amilaza este o enzimă digestivă secretată de glandele salivare și pancreas cu rol în ruperea legăturilor 1,4-glicozidice ale glucidelor polimerice. În plasmă se află sub forma a două izoenzime, S (specifică glandelor salivare) și P (specifică pancreasului). Valori plasmatice ridicate sunt caracteristice pancreatitei acute, obstrucțiilor intestinale, intoxicațiilor acute cu alcool, cetoacidozei cauzate de diabet sau afecțiunilor glandelor salivare. Fiind o proteină cu masă moleculară mică, în mod normal este filtrată cu ușurință de rinichi și excretată, însă în cazul deteriorării funcției renale, aceasta poate fi reținută înregistrându-se o creștere a concentrației plasmatice a acesteia.

Lipaza pancreatică este o enzimă hidrolitică sintetizată de pancreas cu rol în ruperea legăturilor esterice din trigliceride având activitate optimă în prezența sărurilor biliare și a colipazei. Se înregistrează valori serice ridicate în pancreatite acute, stadiile incipiente ale cancerului pancreatic, consumul de codeine și narcotice precum și în cazuri de insuficiență renală sau fracturi osoase (aprox. 40% din cazuri).

Tripsina este o protează care hidrolizează legăturile din proteine care conțin aminoacidul arginină.

9.5. Analize exploratorii ale funcției renale

Rinichiul este un organ al aparatului excretor responsabil pentru menținerea echilibrului electrolitic, excretația substanțelor toxice și metaboliților inutili, secreția unor hormoni (eritropoietina – rol în reglarea sintezei eritrocitelor, renina – rol în reglarea echilibrului sistemului sodiu-apa, prostaglandine – implicate în reglarea tensiunii arteriale și a echilibrului electrolitic), inactivarea insulinei, conversia formei inactive a vitaminei D în metabolit activ.

Cele mai frecvente teste aplicate în analiza funcției renale (glomerulară sau tubulară) sunt rata de filtrare („clearance-ul”), creatinina serică, ureea și acidul uric. Pentru diagnosticarea specifică a diferitelor boli renale este necesară și aplicarea unor proceduri particulare care includ analiza creatininei, proteinelor, aminoacizilor, electroliților în urină, hematuria (prezența celulelor roșii în urină).

Creatinina este un derivat al creatinei, substanță implicată în contracția mușchilor scheletali (proces mediat de creatin kinază și ATP) și sintetizată în ficat printr-o serie de reacții enzimatică. Se înregistrează creșteri ale concentrației creatininei serice și independent de funcția renală datorită dietei (crește cu până la 30% după ingerarea produselor cu conținut ridicat de proteine), scăderea masei musculare, sarcinii sau tratamentului cu corticosteroizi.

Ureea este produsul rezultat la deaminarea aminoacizilor. Concentrațiile plasmatice normale ale ureei variază cu vârsta, alimentația (aportul de proteine crește concentrația ureei), gradul de hidratare.

Acidul uric este produsul rezultat în urma degradării nucleozidelor purinice, fiind excretat în cea mai mare parte pe cale renală. În cazurile în care concentrația crește mult peste 6.5 mg/dl, acidul uric precipită formând depozite la nivelul articulațiilor. Câteva din cauzele hiperuricemiei sunt leucemia (prin distrugerile celulare), consumul de diuretice, unele boli ale oaselor, cetoacidoza diabetică, insuficiența renală.

9.6. Alte enzime cu relevanță clinică

Acid fosfataza (ortofosforic monoester fosfohidrolaza) prezintă în oase, splină, prostată și eritrocite are ca principala aplicație diagnosticul și monitorizarea tratamentului cancerului de prostată.

Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PD). Deficiența de G6PD este cea mai comună enzimeopatie conducând, asociată cu stresul oxidativ sau infecții, la hemoliză.

10. Dopajul și substanțele interzise

Perceput ca folosirea de substanțe interzise în sport cu scopul de a dobândi performanțe sporite, dopajul este ținta unui forum internațional, WADA (World Anti-Doping Agency), înființat în 1999. Activități care pot fi percepute ca dopaj sunt înregistrate în istorie încă din antichitate – folosindu-se în acest scop alcoolul, sau plante ori ciuperci bogate în substanțe psihoactive. În istoria recentă, marșurile sportive din Anglia de la începutul secolului al XIX, care ajungeau până la 500 de mile, sunt documentate a fi fost un loc în care opiul sau alte substanțe intoxicante erau folosite pentru a menține competitorii în formă. Succesul la public al acestor marșuri a stimulat ulterior interesul pentru dezvoltarea competițiilor de ciclism, marcate și ele încă de la început de folosirea de substanțe intoxicante. Încă la începutul secolului XX există mărturii scrise ale medicilor sportivi și antrenorilor despre folosirea de alcool, stricnină și alte droguri în competițiile sportive. Chiar și la acea dată se remarcă faptul că sportivii din competițiile de anduranță erau abuzați fizic și mental, uneori în manieră complet ireversibilă, nu atât de efortul sportiv cât de substanțele care le erau administrate de către antrenorii și medicii lor. Primul pas important, simbolic, împotriva acestor abuzuri poate fi socotit declararea în 1928 de către IAAF (International Association of Athletics Federations) a dopajului ca „interzis”. La acea dată nu existau însă metode de analiză care să permită aplicarea în fapt a acestui principiu.

Conform WADA, se pot defini diverse forme de dopaj:

10.1. Substanțe interzise atât în timpul cât și în afara competițiilor

10.1.1. Substanțe farmacologice care nu sunt aprobate pentru uz uman terapeutic

Intră în această categorie medicamentele care încă nu au autorizație, sau cărora aceasta le-a expirat, sau cele veterinare, sau orice alt compus farmacologic care nu are reglementată de către autoritățile de sănătate în mod expres folosirea.

10.1.2. Agenți anabolizanți

Aceștia induc anabolismul; în cadrul acestuia sunt incluse multe procese, dar cel de sinteză a proteinelor din mușchi este cel care a provocat interesul sportivilor. Anabolizantii interziși sunt împărțiți în două clase:

Steroizi anabolici androgeni: Intră aici hormonii de tipul testosteronului, dar și o listă foarte lungă de derivați chimici similari acestora. Pentru izolarea acestor hormoni, și descoperirea căilor prin care ei pot fi sintetizați în cantități nelimitate în laborator, s-au acordat în anii 1933-1939 două premii Nobel. Dincolo de controlarea trăsăturilor masculine din organism, ei sunt utili medical pentru tratarea unor dezechilibre hormonale sau pentru întărirea organismului în anumite boli. Efectele lor secundare sunt cele care îi fac să fie interziși în sport: dezechilibre în colesterol, tensiune arterială, probleme la ficat, la ventriculul stâng, acnee, atrofie testiculară. Deja la finalul anilor 30 testosteronul era popularizat în reviste dedicate sportivilor în SUA, și se consideră că el a fost utilizat în scop militar în timpul celui de-al doilea război mondial. Ulterior, din cauza efectelor secundare, s-a dezvoltat o întreagă industrie farmaceutică dedicată sintezei de substanțe steroide similare testosteronului dar care să aibă mai puține efecte nedorite. Pe măsură ce implicațiile financiare și cele politice (ca de exemplu războiul rece) ale sportului au crescut, părțile „cele mai competitive” s-au angajat într-o cursă a dopajului nu cu mult diferită de cea a înarmării nucleare din aceeași perioadă. Notorii sunt numele lui John Ziegler, chimistul care a jucat un rol esențial în dezvoltarea steroizilor în SUA, sau cazul Germaniei de Est, azi dispărută ca țară, ai cărei sportivi au fost faimoși pentru cazurile de dopaj. Ignorarea regulilor legate de

dopaj, uneori chiar de federațiile de specialitate, este însă încă non-neglijabilă chiar și în statele cele mai avansate; cazurile de dopaj ale atleților americani în preajma Olimpiadei de la Seul au scos în evidență dovezi sugerând că sute de cazuri de dopaj trec nesancționate intern de federația de specialitate; una dintre victimele acestei situații mărturisea într-adevăr nu numai că dopajul este bine cunoscut între atleți, dar și că ei, ca atleți nu pot face absolut nimic pentru a-l opri.

Alți agenți anabolizanți: Intră aici medicamente de sinteză sau substanțe extrase din ciuperci ori alte organisme, ale căror structuri nu seamănă cu ale testosteronului (nu sunt steroizi), dar au efecte similare sau chiar mai puternice.

10.1.3. Hormoni peptidici, factori de creștere, și substanțe înrudite cu acestea

Intră aici substanțe de tipul eritropoietinei, implicate în sinteza celulelor roșii pentru sânge, hormoni ca insulina implicați în controlul catabolismului (arderilor celulare), hormoni de creștere care afectează mușchi, tendoane, ligamente, vascularizare, și altele.

10.1.4. Agoniști beta

Un „agonist” este o substanță care e capabilă să se lege în organism de anumiți receptori și să afecteze transmiterea unor semnale. Agoniștii beta adrenergici afectează căile controlate de adrenalină (epinefrină), controlând pulsul, contracțiile musculare și viteza anumitor părți ale catabolismului. Printre cei mai cunoscuți din această clasă este salbutamolul.

10.1.5. Hormoni și modulatori metabolici (alții decât hormonii peptidici)

Intră în această categorie unele steroide, modulatori ai metabolismului steroizilor (în special în relație cu estrogenul), modulatori ai miostatinei (o proteină care blochează dezvoltarea mușchilor), și altele.

10.1.6. Agenți diuretici, și alți agenți de mascare

Diureticele favorizează eliminarea rapidă din organism a unor agenți dopanți, și sunt de aceea interzise ele însele. De asemenea, produsele care se pot injecta în sânge cu scopul de a-l dilua, sau de a dezactiva ori bloca în el agenții dopanți (soluții de albumina, și altele) sunt interzise.

10.2. Proceduri interzise atât în timpul cât și în afara competițiilor

10.2.1. Mărirea artificială a capacității de transport a oxigenului

În această categorie intră injectarea de celule roșii, fie provenite de la altă persoană fie prelevate anterior de la sportivul în cauză. Această procedură, deși prin adăugarea suplimentară de celule roșii permite transportul unei cantități mai mari de oxigen de la sânge către mușchi și creier, are riscuri precum infecțiile (unele cunoscute, precum hepatita, altele probabil încă necunoscute însă cu posibile efecte nocive pe viitor), etichetarea greșită a grupei de sânge (cu risc letal), depozitarea improprie a sângelui înainte de transfuzie (acesta, chiar refrigerat în condiții sterile potrivite, are o durată de valabilitate de cel mult cca o lună), creșterea vâscozității – cu probleme pentru circulație. Este interzisă și folosirea de substanțe care transportă oxigenul, altele decât celulele roșii.

10.2.2. Manipularea fizică sau chimică

Este interzisă orice acțiune care ar avea ca efect modificarea probelor colectate pentru dopaj, sau a rezultatelor analizelor. De asemenea, eliminarea din circulație a sângelui, urmată de prelucrarea lui pentru a-l „curăța” de agenți dopanți, sau injecții de mai mult de 50 mL per șase ore sunt interzise, în afara cazurilor medicale certificate.

10.2.3. Dopajul genetic

Este interzisă introducerea de material genetic străin, în scopul de a altera funcționarea corpului, sau introducerea de celule străine.

10.3. Substanțe interzise doar pe parcursul competițiilor

10.3.1. Agenți stimulanți

Intră în această categorie atât stimulanți specifici (care au o anumită țintă în organism, afectează o cale metabolică bine definită, precum adrenalina), cât și cei non-specifici. În această ultimă clasă intră amfetamina (cunoscută și ca speed, sau benzedrina). Despre ea se știe că a fost inițial sintetizată ca medicament pentru probleme respiratorii; curând i s-au descoperit proprietățile stimulante mai generale, iar la Olimpiada de la Berlin în 1936 era deja în uz sportiv. Se apreciază că pe parcursul celui de-al doilea război mondial armatele combatante au consumat, în ambele tabere, cel puțin zeci de milioane de tablete de amfetamină; este bine documentată folosirea ei și mai târziu, în războiul din Vietnam. O mare parte din aceste stimulente produse pentru uz militar au rămas nefolosite – în parte datorită efectelor secundare serioase – ajungând în schimb ca droguri pe piața neagră.

10.3.2. Narcoticele

Intră aici morfina, heroina (diamorfina) și altele.

10.3.3. Canabinoidele

Intră aici compuși sau amestecuri provenite din plante (hașiș, marijuana), dar și substanțe sintetice care li se aseamănă.

10.3.4. Glucocorticosteroizii

Aceștia sunt hormoni steroidici care afectează metabolismul glucozei

10.4. Substanțe interzise selectiv, doar în anumite sporturi

Intră în această categorie alcoolul (pentru sporturi precum automobilismul, karate, și altele) și beta-blocantele (care acționează asupra acelorasi căi ca agonistii beta, a se vedea mai sus). Ele sunt fie interzise fie au utilizare permisă doar în anumite limite; restricțiile sunt valabile doar pe parcursul competițiilor.

11. Anexe

Anexa 1 Introducere în biochimie.

Încă de la nivel celular se poate observa atât unitatea cât și diversitatea lumii vii. Cele mai mici organisme conțin o singură celulă și sunt microscopice (li se spune adesea „*microbi*”, sau „microorganisme”), pe când organismele multicelulare (cum sunt de exemplu oamenii, animalele, plantele sau ciupercile) conțin tipuri diferite de celule, care variază în mărime, formă și funcție. În ciuda acestor diferențe evidente, compoziția chimică și organizarea celulară seamănă foarte mult între diversele specii.

Toate organismele vii fac parte din una din cele trei ramuri pe care le cunoaștem în prezent, și despre care se consideră că provin dintr-un strămoș comun. *Arhebacteriile* și *eubacteriile* au ca proprietate comună faptul că sunt monocelulare, și faptul că nucleul celulei lor nu este delimitat foarte strict de restul citoplasmei (din acest al doilea motiv li se spune și *procariote*). Diferențele dintre ele sunt date de mediul în care acestea trăiesc. Dacă eubacteriile populează solul, suprafața apelor și țesuturile altor organisme, arhebacteriile, descoperite mai recent și caracterizate mai puțin din punct de vedere biochimic, trăiesc în special în habitate extreme (lacuri sărate, mlaștini acide sau fundul oceanelor). Organismele din cea de-a treia categorie, *eucariotele*, sunt caracterizate de faptul că nucleele lor sunt înconjurate de o membrană separată; multe dintre eucariote sunt multicelulare – inclusiv oamenii.

Pe lângă bacterii și eucariote, mai există o clasă de entități numite *virusuri*, care nu sunt organisme vii dar sunt formați din două categorii de molecule „împrumutate” de la materia vie. Anume, virusurile conțin doar proteine și acizi nucleici – fără a avea membrană sau citoplasmă. Virusurile nu se pot înmulți singure și nu își pot extrage energie din mediu; ei parazitează însă organismele vii, care îi multiplică *din eroare*, confundându-i cu componente proprii.

Un alt factor important în clasificarea organismelor este prezența oxigenului molecular în mediul în care acestea își desfășoară activitatea. Organismele „aerobe”, adică trăitoare într-un mediu bogat în molecule de oxigen (O_2), își procură energia prin transferul de electroni de la o substanță combustibil la molecula de oxigen („arderii”); din aceasta categorie fac parte majoritatea organismelor cu care suntem familiarizați din viața de zi cu zi – inclusiv noi înșine. Cele „anaerobe” funcționează adesea în moduri similare aerobelor, doar că folosesc în locul oxigenului alte substanțe, iar O_2 este adesea pentru ele chiar toxic. Spre exemplu, microorganismele adaptate mediilor anaerobe obțin energia necesară proceselor vitale prin transferul electronilor asupra nitraților (formând N_2), sulfaților (formând hidrogen sulfurat H_2S) sau dioxidului de carbon CO_2 (formând metan, CH_4).

O altă clasificare a organismelor vii este făcută în funcție de modul în care acestea pot să obțină energia și carbonul necesare în sintezele materialului celular. După acest considerent, organismele se împart în fototrofe, atunci când utilizează energia solară sau chemotrofe, când obțin energia prin oxidarea unui combustibil. Mai mult, fototrofele se împart în autotrofe, atunci când tot carbonul de care au nevoie îl obțin de la CO_2 și heterotrofe, când necesită compuși pe bază de carbon mai complecși decât CO_2 („organici”). Nici chemotrofele nu-și pot asigura în întregime necesarul de carbon numai de la CO_2 . Astfel, ele se împart în litotrofe (sursa este un compus anorganic – „piatră”) sau organotrofe (sursa sunt compușii organici).

Apa – un component esențial al sistemelor vii

Interacțiunile fizice dintre molecule sunt foarte importante, atât pentru structura cât și pentru funcționalitatea acestora. Tăria și specificitatea interacțiunilor sunt dependente de mediul în care acestea se produc – și anume, pentru biologie, apa.

Spre deosebire de alți compuși cu o organizare atomică similară (NH_3 , H_2S), apa posedă unele trăsături excepționale. Punctul de fierbere, de topire, căldura de evaporare, tensiunea superficială sunt mult crescute pentru o substanță cu o masă moleculară relativ mică, neionică și care nu conține în structura ei un metal. Aceste proprietăți arată că forțele de atracție dintre moleculele de apă sunt foarte mari.

Cei doi atomi de hidrogen din molecula de apă sunt legați covalent de oxigen. În cadrul acestor legături, atomul de oxigen, fiind mai electronegativ, atrage electronii mai puternic decât hidrogenul, conferindu-i moleculei caracterul „polar” (cu polul negativ la oxigen și cel pozitiv la hidrogen). Având o sarcină parțială pozitivă ca urmare a acestei interacțiuni, atomul de hidrogen este în plus atras electrostatic de un atom de oxigen al altei molecule de apă, fenomenul fiind denumit „legătură de hidrogen”. Spre deosebire de legăturile covalente, care pot fi rupte folosind o energie de cca 470 kJ/mol, legăturile de hidrogen sunt mult mai slabe, necesitând pentru rupere doar cca 23 kJ/mol. De asemenea, legăturile de hidrogen sunt de aproximativ două ori mai lungi decât cele covalente.

Datorită polarității sale ridicate, apa este un solvent foarte bun pentru substanțele ionice (precum sărurile), dar și pentru substanțele polare, cum sunt zaharurile, alcoolii simpli, aminele, aldehydele și cetonele, cu care formează legături de hidrogen. Compușii care se dizolvă ușor în apă sunt denumiți în general hidrofilii. Prin contrast, compușii hidrofobi, cum sunt cloroformul sau benzenul, deși sunt solvenți buni pentru biomoleculele polare, nu pot fi dizolvați în apă, nefiind capabili de a forma legături de hidrogen cu aceasta. Moleculele lor mai degrabă se asociază între ele ca urmare a unor forțe hidrofobe mult mai slabe și mai puțin specifice decât legăturile de hidrogen.

Multe biomolecule, cum sunt proteinele, diferiți pigmenti, unele vitamine, steroli și fosfolipide membranare, conțin în structura lor atât părți hidrofobe, cât și hidrofile. Astfel de molecule se numesc amfipatice. Interacțiunile hidrofobe care apar la nivelul lor sunt esențiale pentru structura și funcționalitatea acestora (ex., membrana celulară, proteinele).

Datorită celor două perechi de electroni din jurul oxigenului, apa este capabilă să atace alte molecule dacă acestea au puncte cu sarcină electrică pozitivă – fie ea netă ori parțială. În general, atacul apei are ca rezultat ruperea („hidroliza”) legăturilor amidice, glicozidice sau esterice care stau la baza multor molecule din sistemele vii.

O altă caracteristică a apei este reprezentată de tendința ușoară de a ioniza, cu formare de OH^- și H^+ . Ionii produși de către apă, respectiv concentrația lor molară – în special a protonilor, $[\text{H}^+]$, sunt baza construirii scalei pH-ului: $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$.

Măsurarea pH-ului este una dintre cele mai importante și frecvente proceduri din biochimie. pH-ul afectează structura și funcția biomoleculelor, activitatea catalitică a enzimelor iar măsurarea acestui parametru din sânge și urină este o metodă frecvent utilizată în diagnoza unor boli. Organismele posedă o varietate de mecanisme prin care pH-ul intra și extracelular este păstrat constant.

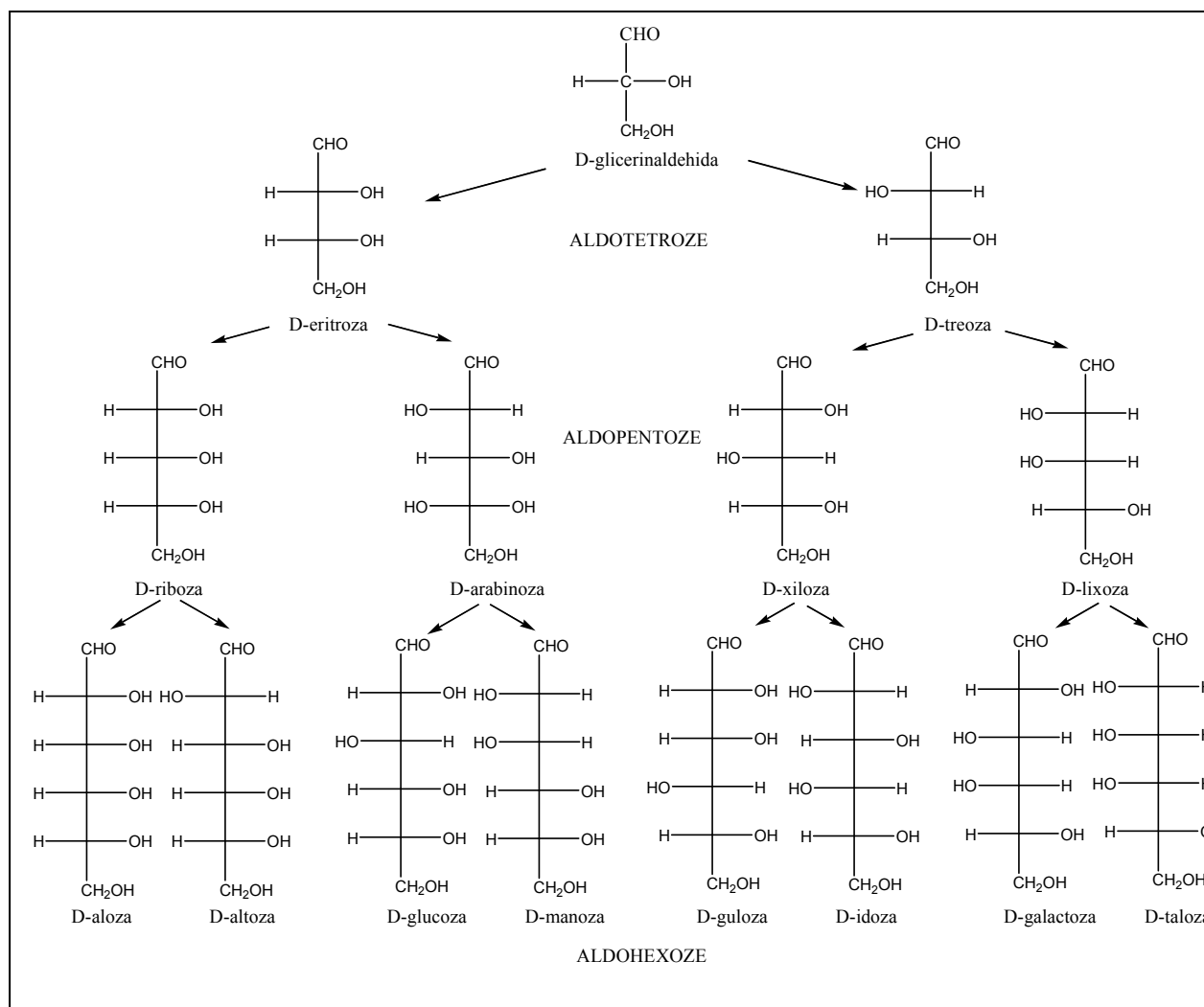
Se definește în acest context „soluția tampon” ca un amestec ce menține pH-ul constant chiar și atunci când i se adaugă sau iau protoni. În general, o soluție tampon conține un acid/bază slabă și sarea sa conjugată (cu alte cuvinte, o specie chimică ce se prezintă sub două forme: una care poate servi drept sursă de protoni, și alta care poate servi drept acceptoare). Eficiența unui

astfel de sistem este maximă la pH-ul la care concentrația speciei donoare de proton este egală cu cea a speciei acceptoare. În preajma acestui punct, definit ca „pKa” și care este o caracteristică ce diferă de la substanță la substanță, pH-ul nu se modifică decât foarte puțin la adăugarea unui acid sau al unei baze peste soluția tampon. Intracelular, pH-ul este menținut constant de către sistemul fosfat ($\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$) și sistemul histidinic (a se vedea secțiunea dedicată aminoacizilor). În cazul animalelor, pH-ul extracelular este menținut constant de către sistemul de tamponare $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$. Aminoacizii din constituția proteinelor posedă unele grupări funcționale care sunt acizi slabi sau baze slabe. Histidina, molecula de ATP și unii metaboliți pot contribui la capacitatea de tamponare a organismului. De asemenea, este cunoscut exemplul acizilor organici din vacuolele plantelor sau sistemul tampon amoniacal din urină. În experimentele de laborator se folosesc adesea soluții tampon ca medii de reacție pentru studierea moleculelor importante biologic, preparate din diverși compuși – acetat, fosfat, borat, și altele.

Anexa 2. Glucide

Monozaharide:

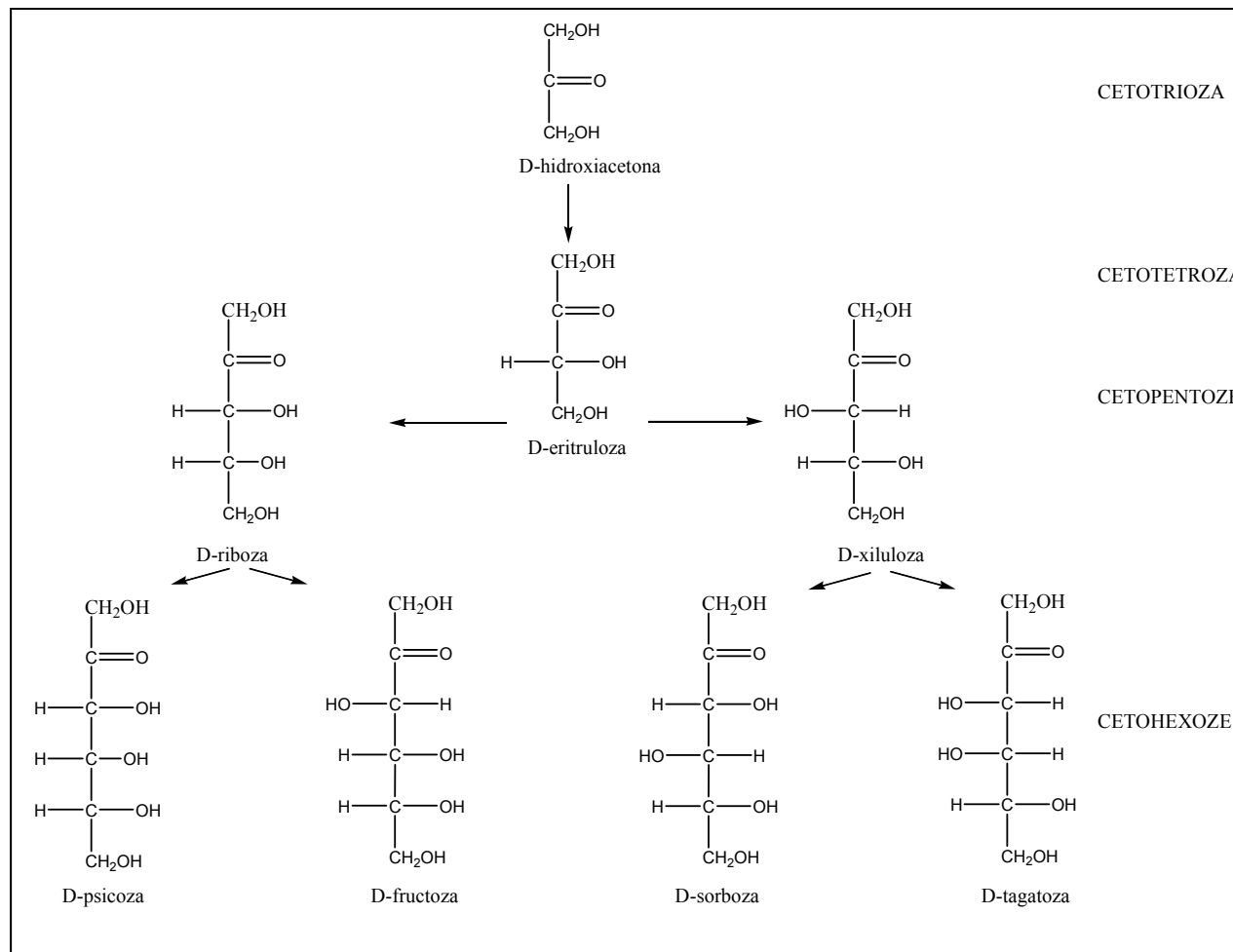
În funcție de numărul de atomi de carbon, monoglucidele se împart în trioze, tetroze, pentoze, hexoze și heptoze. În funcție de poziția grupării carbonil la capătul moleculei, deci **aldehidică**, sau în interiorul moleculei, deci **cetonică**) și de numărul total de atomi de carbon, monozaharidele se împart în **aldotriozes**, **aldopentoze**, **cetotriozes**, **cetohexoze**, etc. Cea mai simplă aldooză este aldehida glicerică iar cea mai simplă cetoză este di-hidroxi-acetona. Aldohexoza D-glucoză și cetohexoza D-fructoză sunt cele mai comune monozaharide din natură. Aldopentozele D-riboză și 2-deoxi-riboza intră în constituția nucleotidelor din acizii nucleici.



Izomeria optică:

Cea mai simplă biomoleculă care prezintă un centru chiral și, prin urmare, doi izomeri optic activi (enantiomeri), este aldehida glicerică. Prin convenție, izomerul care prezintă hidroxilul atașat centrului chiral pe partea stângă, în formula de tip Fisher folosită în Figurile de mai sus, face parte din seria D iar cel care prezintă hidroxilul pe partea dreaptă, face parte din seria L. Din punct de vedere al proprietăților, singura diferență între doi izomeri chirali tine de

modul în care ei afectează lumina ce trece prin ei (și chiar acolo, este nevoie de un tip special de lumină, „polarizată”). Notațiile D și L nu au legătură cu direcția în care este rotit planul luminii polarizate. Pentru a sublinia și acest fapt, la denumire se specifică prin semnul „+” capacitatea dextrogiră (de a roti lumina polarizată spre dreapta) sau „-” capacitatea levogiră a moleculei respective. Toate moleculele care au hidroxilul centrului chiral aflat la cea mai mare distanță de gruparea carbonil în aceeași configurație cu cea a hidroxilului de referință al aldehidei glicerice face parte din seria respectivă (D sau L). Organismele vii folosesc aproape exclusiv glucide D.

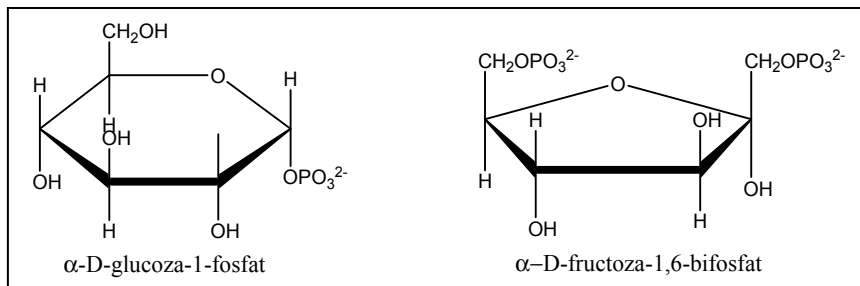


Derivații monozaharidelor

Ca urmare a unor reacții chimice sau enzimatice se produc diferiți derivați monoglucidici. Vor fi discutați, în cele ce urmează, cei mai importanți:

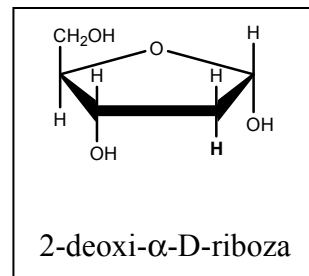
1) Esterii fosforici. Prin condensarea unui acid

fosforic cu o grupare hidroxil a unei monozaharide se formează un ester fosforic. Derivații fosforici, astfel formați, sunt stabili la pH fiziologic și îndeplinesc diferite roluri. Fosforilarea



glucidelor le activează pentru transformările chimice care vor avea loc sau le poate controla accesul prin membranele celulare. Unele glucide fosforilate sunt importanți intermediari metabolici, altele sunt componente ale nucleotidelor și acizilor nucleici.

2) Deoxiglucidele sunt monozaharide la care unul sau mai mulți hidroxili au fost înlocuiți cu hidrogen. Spre exemplu, **2-deoxi-riboza** este constituantă a ADN-ului (în al cărui nume se și regăsește – acid **deoxiribonucleic**).



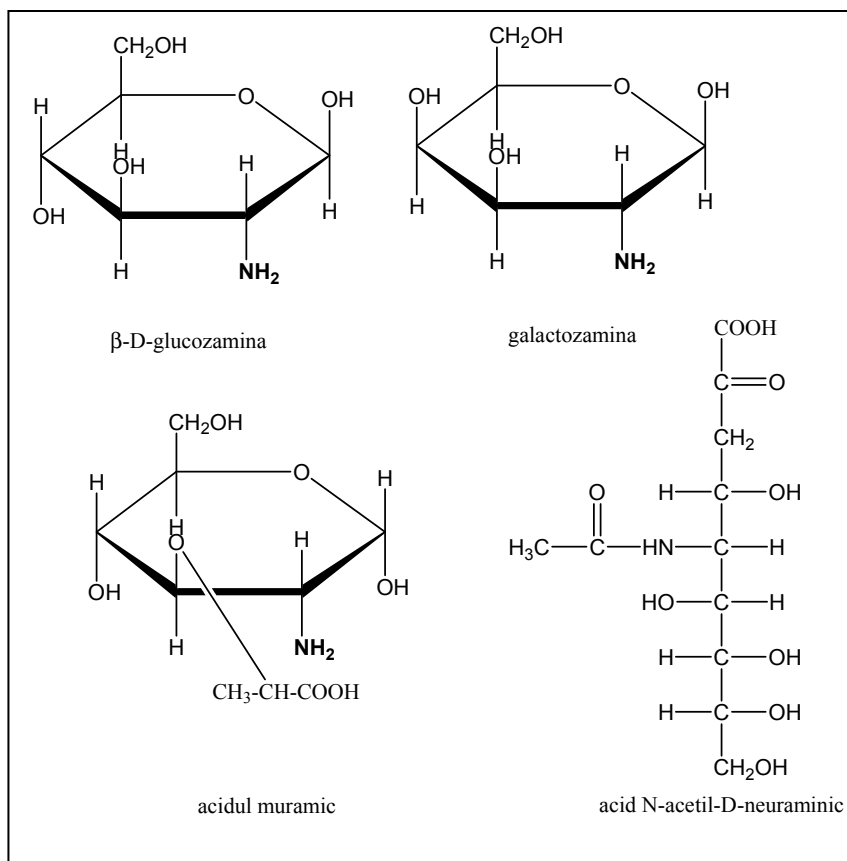
3) Derivații aminici, ca D-glucozamina și D-galactozamina, conțin în plus un atom de azot, sub forma unei grupări NH_2 (amino).

Acești derivați amino glucidici apar în multe oligo- și polizaharide, cum este chitina, polizaharidul din exoscheletul crustaceelor și al insectelor. Acidul muramic și neuraminic, polizaharide componente ale membranei celulare din organismele superioare și din peretele bacterian, sunt

glucozamine. Unii derivați de acid neuraminic, cunoscuți sub numele de acizi sialici, sunt larg răspândiți în sistemele bacteriene și animale.

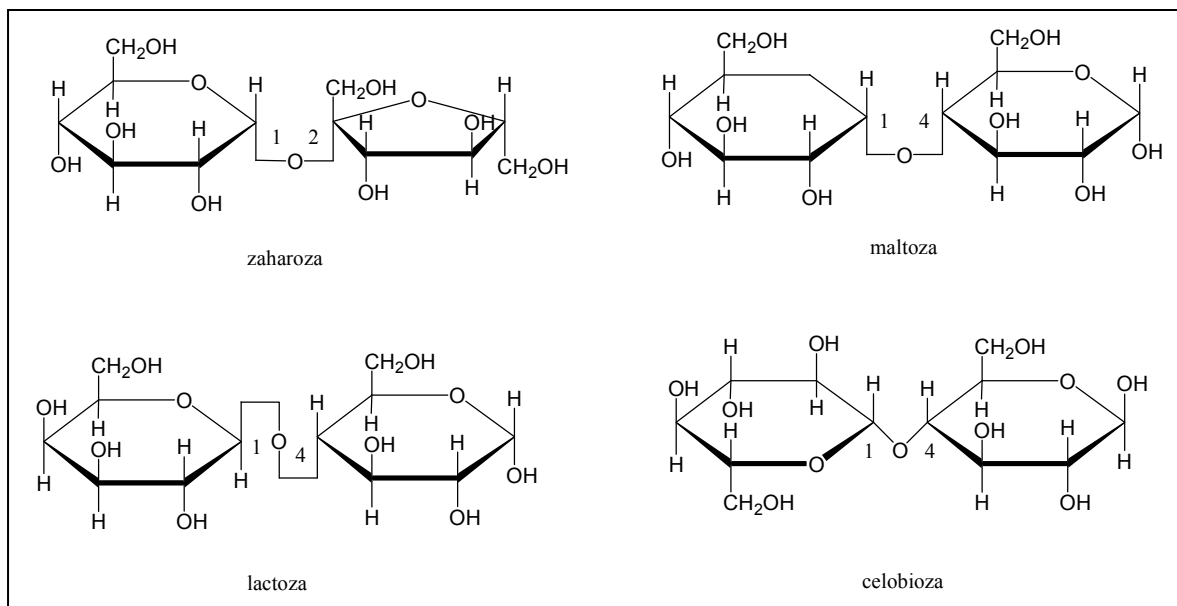
4) Alcoolii glucidici se pot prepara prin reducerea grupării carbonil a cetozelor sau aldozelor. Sorbitolul, manitolul și xilitolul sunt caracterizați de un gust dulce, fiind folosiți ca îndulcitori. Ribitolul este constituantul vitaminelor/coenzimelor flavinice.

5) Acizii glucidici sunt obținuți prin oxidarea a unul sau doi atomi de carbon dintr-o glucidă, apărând astfel grupări COOH

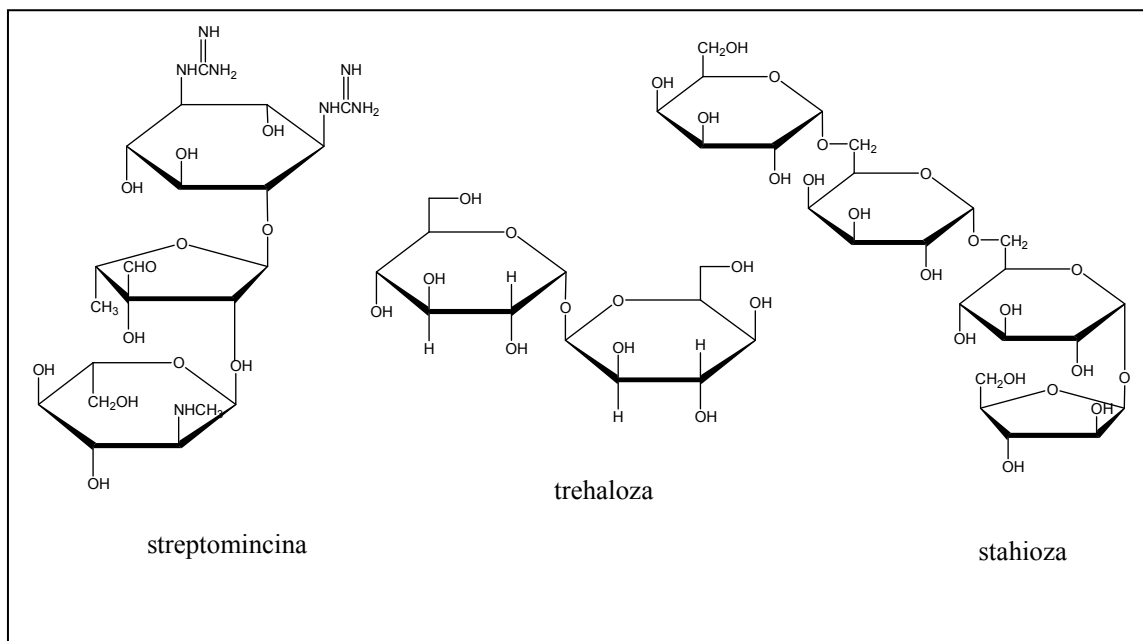


Oligo și polizaharide

α -Amiloza este un lanț liniar, în care legăturile glicozidice sunt de tipul 1 \rightarrow 4 (unde prin această notație se indică numerotarea atomilor de carbon din cele două glucide, care participă la legătura C-O-C). Lanțul polimeric poate varia în greutate, de la ordinul sutelor până la ordinul milioane. α -Amiloza este ușor solubilă în apă, formând miceli, cu structuri helicoidale. Reacționează cu iodul care poate pătrunde în zonele mai hidrofobe, formând un complex caracteristic, de culoare albastră, într-un proces foarte des utilizat în laboratoarele de analiză.



Amilopectina este un polimer ramificat întâlnit în amidon. Prezintă o catenă similară α -amilozei, dar spre deosebire de aceasta prezintă și ramificații α ($1\rightarrow6$), câte una la aproximativ 8-30 unități monoglicidice. Masa moleculară a acestui polimer este de ordinul sutelor de milioane. La fel ca α -amiloza, amilopectina formează miceli în apă, acestea dând cu iodul o colorație roșu-violet.



Plantele depozitează amidonul în cloroplaste, locul în care se desfășoară fotosinteza, și în amiloplaste particule specializate pentru depozitarea acestuia. Printr-un clivaj fosforilic, realizat de către amidon fosforilaze, se eliberează treptat glucoză. Legăturile α ($1\rightarrow6$) din amilopectină nu sunt susceptibile atacului fosforilazelor.

β -amilaza, o exoamilază prezentă la plante și microorganisme, scindează dizaharidele (maltoza) de la capătul rezervelor poliglucidice. Nici α -amilaza, nici β -amilaza nu pot scinde

legăturile α (1 \rightarrow 6) din amilopectină. Singura enzimă capabilă de a distruge aceste legături este α (1 \rightarrow 6) glucooxidaza.

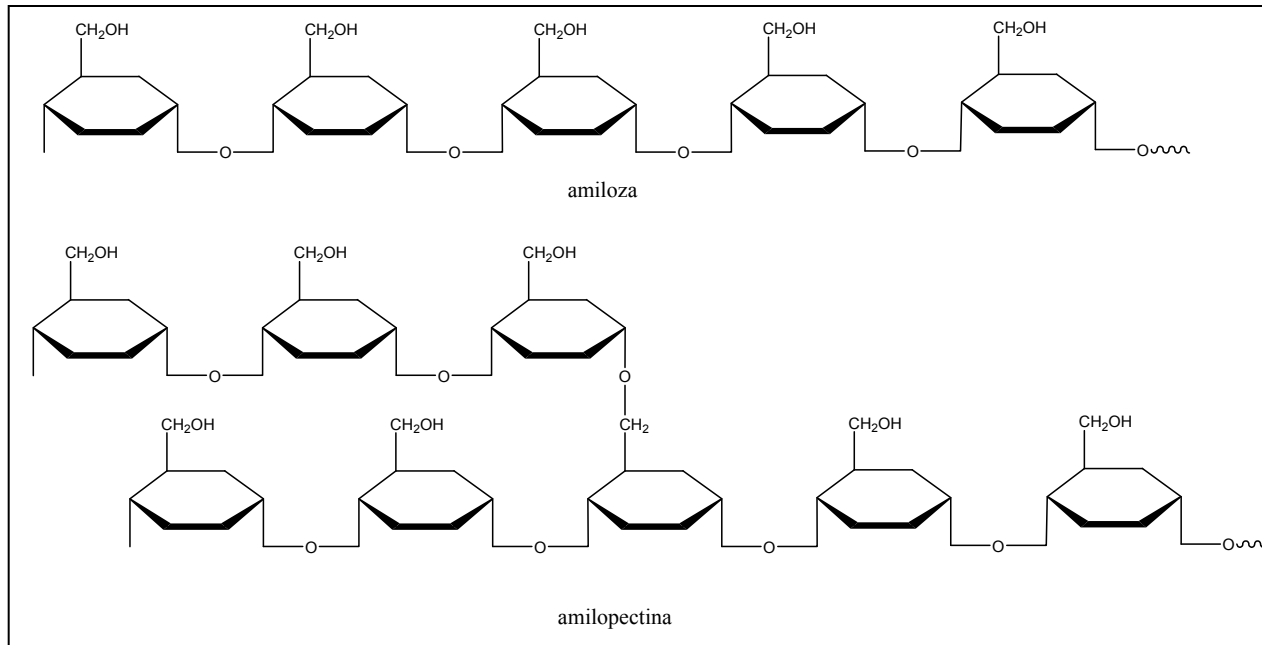
Alginatul este o polizaharidă întâlnită în algele brune. Atunci când nu leagă nici un ion, aceștia au o structură asemănătoare celulozei, pe când legarea unui ion (de litiu, calciu, sodiu sau potasiu) modifică structura acestora într-una de helix.

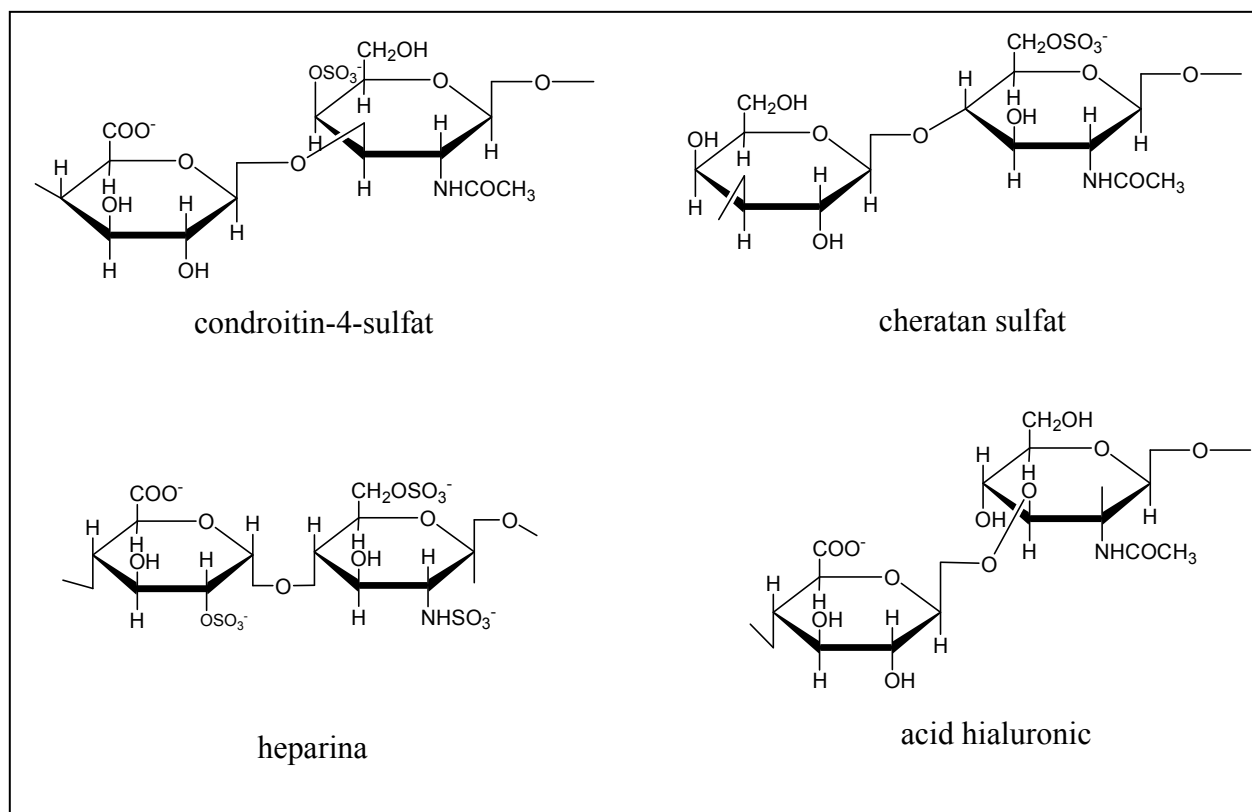
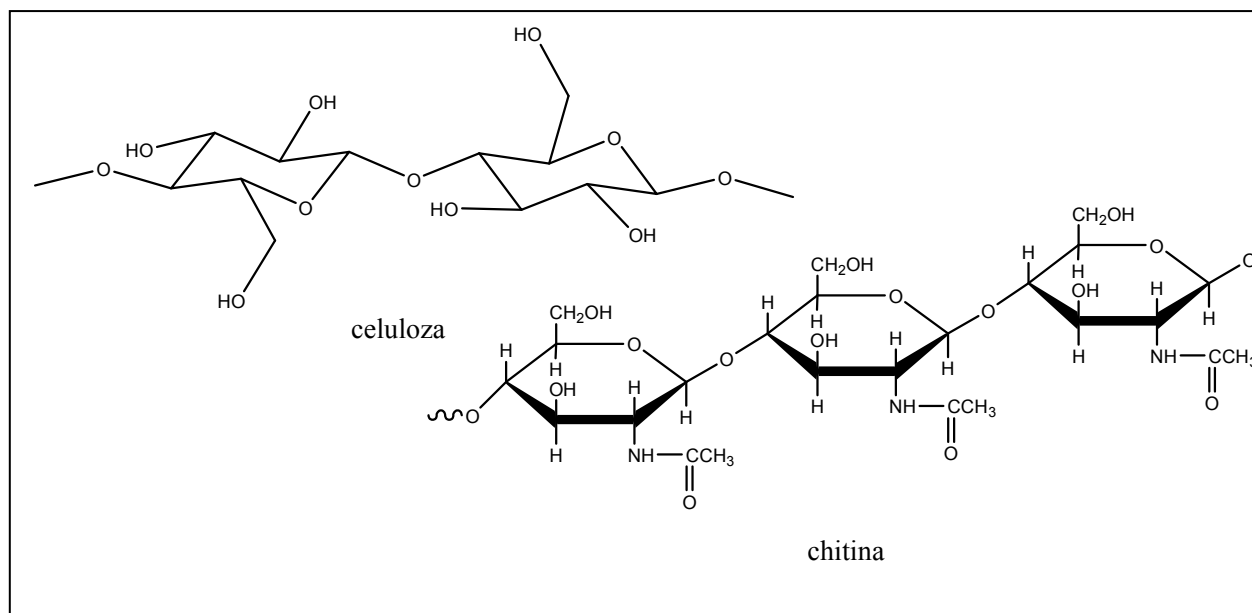
Acidul hialuronic, alcătuit din acid D-glucoronic și N-acetilglucozamină, este un lichid vâscos care servește ca lubrifiant conținut în lichidul sinovial de la nivelul articulațiilor și din umoarea vitrească a ochilor vertebratelor. De asemenea, acidul hialuronic este un component esențial al cartilajelor și tendoanelor.

Condroitin sulfatul, cu rol important în reglarea tensiunii la nivelul cartilajelor, tendoanelor și al aortei, se deosebește prin două aspecte de acidul hialuronic: este un polimer mai scurt și este legat covalent de proteine.

Keratan-sulfatii, prezenți în corneea, cartilaje, oase și alte structuri (păr, unghii, coarne) nu prezintă acid hialuronic în componența lor.

Heparina, un anticoagulant secretat de către unele leucocite, este eliberată în circulația sanguină, unde, prin legarea de o proteină - trombina, inhibă coagularea sângelui.





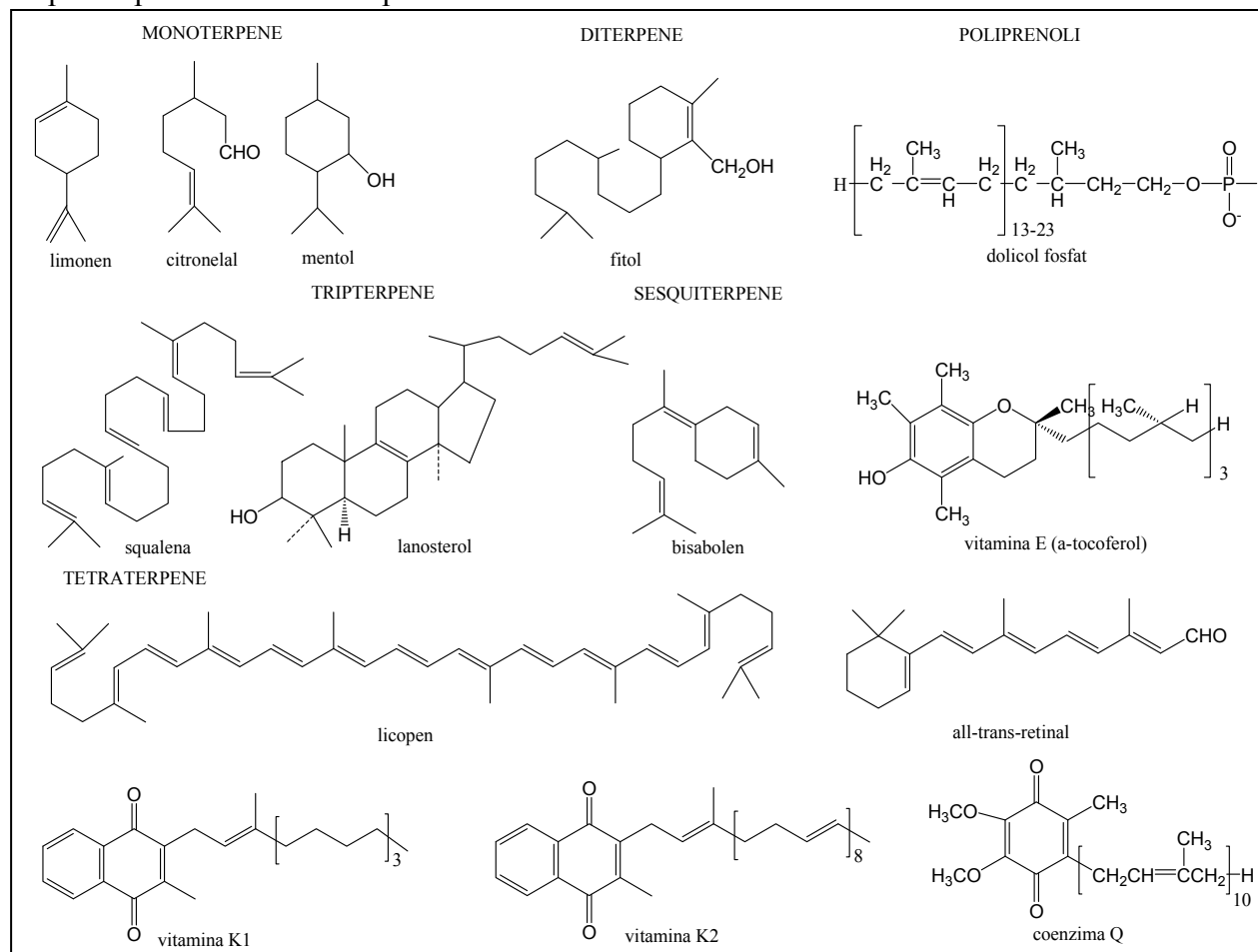
Anexa 3. Lipide

Unitățile din **terpene** sunt legate în lanțuri cu catenă dreaptă sau în structuri ciclice. Monoterpenele (conțin două unități izoprenice) sunt produse de către plantele superioare, în timp ce sesquiterpenele (trei unități izoprenice) și diterpenele (patru unități izoprenice) sunt mai puțin cunoscute.

Membranele biologice nu sunt niște structuri rigide, statice ci, din contră, atât lipidele cât și proteinele componente se pot deplasa atât în plan lateral cât și transversal. În bacterii de exemplu, astfel de deplasări pot duce o lipidă de la un capăt al membranei până la celălalt în mai puțin de o secundă. Proteinele membranare pot forma clusteri, formați prin auto-asamblarea acestora sau complexe multiproteice, care efectuează diferite funcții în membrană.

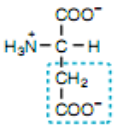
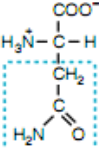
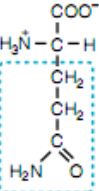
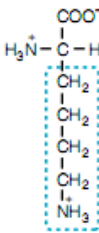
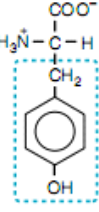
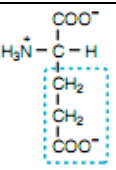
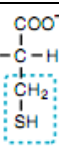
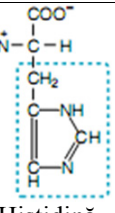
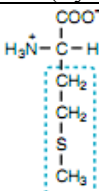
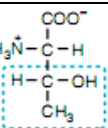
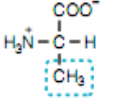
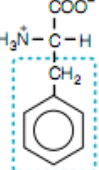
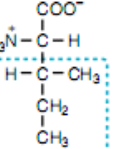
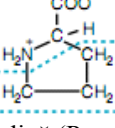
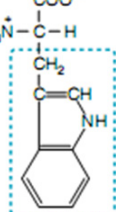
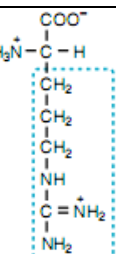
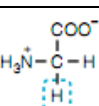
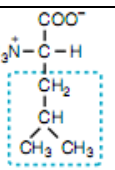
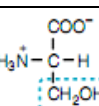
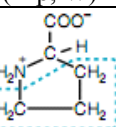
Asimetria transversală a membranei este, de asemenea, foarte importantă având în vedere rolurile diferite pe care le au cele două fețe ale membranei. Grupările carbohidrat ale glicolipidelor se găsesc pe fața externă, unde participă la fenomenul de recunoaștere celulară, iar sarcina totală a celor două fețe membranare, determinată de distribuția diferită a lipidelor, afectează potențialul membranar și implicit, funcționarea unor canale ionice și a altor proteine membranare.

Crearea și menținerea asimetriei lipidice transversale este dependentă de activitatea flipazelor, proteine cu rol de a transporta rapid sau foarte rapid lipidele, printr-un proces pasiv respectiv printr-unul ATP-dependent.



Anexa 4 – Proteine

Dintre cei 20 de aminoacizi, opt nu pot fi sintetizați în organismul uman, fiind obținuți doar pe calea alimentației - și se numesc de aceea aminoacizi “esențiali”: Val, Phe, Leu, Ile, Thr, Trp, Met, Lys.

 <p>Acid aspartic (Asp, D)</p>	 <p>Asparagină (Asn, N)</p>	 <p>Glutamină (Gln, Q)</p>	 <p>Lizină (Lys, K)</p>	 <p>Tirozină (Tyr, Y)</p>
 <p>Acid glutamic (Glu, E)</p>	 <p>Cisteină (Cys, C)</p>	 <p>Histidină (His, H)</p>	 <p>Metionină (Met, M)</p>	 <p>Treonină (Thr, T)</p>
 <p>Alanină (Ala, A)</p>	 <p>Fenilalanină (Phe, F)</p>	 <p>Izoleucină (Ile, I)</p>	 <p>Prolină (Pro, P)</p>	 <p>Triptofan (Trp, W)</p>
 <p>Arginină (Arg, R)</p>	 <p>Glicină (Gly, G)</p>	 <p>Leucină (Leu, L)</p>	 <p>Serină (Ser, S)</p>	 <p>Valină (Val, V)</p>

Atât aminoacizii în stare liberă cât și peptidele au un punct izoelectric (pI) caracteristic, punct la care numărul sarcinilor pozitive ale moleculei este egal cu numărul sarcinilor negative, sarcina totală fiind zero. La valori mai mici ale pH-ului, sarcina aminoacidului sau proteinei devine pozitivă din cauza atașării de exces de protoni; la pH mai mare, sarcina devine negativă

Lungimea lanțului peptidic variază de la o proteină la alta. Spre exemplu, citocromul c uman conține în lanțul său polipeptidic 104 aminoacizi legați într-un singur lanț, iar, titina – proteina care ajută la contracția mușchilor, are între 27000 – 35000 aminoacizi și o masă moleculară aprox. 3000000 Da.

O parte din proteine sunt formate dintr-un singur lanț polipeptidic, iar altele au două sau mai multe polipeptide asociate necovalent, care pot fi similare între ele sau diferite și se numesc oligomere iar unitățile identice se numesc protomeri. Un exemplu în acest sens, este hemoglobina, formată din patru subunități polipeptidice, legate necovalent între ele: două lanțuri α identice și două lanțuri β identice. Fiecare subunitate α este împachetată într-o formă identică

cu subunitatea β ; astfel, ea poate fi considerată fie o proteină tetramerică formată din patru subunități, fie o proteină dimerică formată din protomerii $\alpha\beta$.

Într-un număr mai mic sunt proteinele care conțin două sau mai multe lanțuri polipeptidice legate covalent. Un exemplu este insulina, o proteină secretată de pancreas, care reglează concentrația glucozei în sânge. Molecula insulinei este alcătuită din două lanțuri polipeptidice liniare (A și B) legate între ele prin punți di-sulfurice (legături sulf-sulf între două cisteine).

Comparând **structurile primare** ale proteinelor se pot identifica proteine omoloage (proteine înrudite de-a lungul evoluției, care derivă din același strămoș; au structuri similare – formează familii și superfamilii, și sunt considerate proteine diferite).

Compoziția aminoacizilor în structura proteinelor variază în mare măsură. În majoritatea proteinelor se găsesc cei 20 de aminoacizi comuni, prezenți de obicei, în cantități similare; excepții sunt His, Cys, Met, Tyr și Trp care se găsesc în cantități mai mici. Unele proteine specializate, au o compoziție neobișnuită: collagenul conține 33% glicina și 21% prolină+resturi de hidroxiprolină, majoritatea proteinelor din salivă conțin 22% glutamat + glutamină și 20-45% prolină.

Structura secundară reprezintă aranjamentul spațial a catenelor polipeptidice, organizare generată și stabilizată datorită legăturilor de hidrogen care se stabilesc intracatenar între grupările $-\text{NH}-$ și grupările $>\text{C}=\text{O}$ ale legăturii peptidice. Formarea acestor legături de hidrogen este posibilă datorită distribuției diferite a electronilor la nivelul legăturii peptidice, care devine parțial ionizată deoarece atomul de O prezintă un exces de electroni, iar protonul de la atomul de N un deficit de electroni. Chiar dacă legăturile de hidrogen sunt legături slabe, structura secundară este stabilă datorită numărului mare de legături de hidrogen și de repartizarea lor uniformă de-a lungul catenelor polipeptidice. Structura secundară este prezentată de cele mai multe ori prin două modele: α -helix și foi β -pliate.

Modelul α -helix este cea mai comună formă de structură secundară și rezultă din spiralarăa catenei polipeptidice într-o elice orientată de la stânga la dreapta, unde toate grupările R ale aminoacizilor sunt orientate spre exteriorul elicei; fiecare spirală conține 3,6 aminoacizi.

În modelul β -pliat catena polipeptidică are un aspect de zig-zag pliat în dreptul atomului de Ca care poartă grupările $-\text{COOH}$ și $-\text{HN}_2$ unde se realizează legăturile de hidrogen: acestea se realizează între două porțiuni de catenă diferite, aliniate una față de cealaltă fie paralel fie antiparalel. Proteinele cu structura β -pliată sunt flexibile, dar nu elastice.

Structura terțiară se referă la aranjamentul catenelor polipeptidice în spațiul tridimensional și se datorează stabilirii unor forțe de legătură între lanțurile laterale ale catenei polimere. Legăturile care se stabilesc sunt: legături de hidrogen (între gruparea carbonil $\text{C}=\text{O}$ și gruparea $\text{NH}-$ sau între gruparea hidroxil $-\text{OH}$ și azotul iminic $=\text{NH}$), legături di-sulfurice (covalente, se stabilesc între grupările de sulf de la resturile de cisteină), legături ionice (în special între grupările amino de la lizine și arginine și grupările carboxil de la acizii aspartic și glutamic), legături coordinative (în cazul metaloproteinelor) și interacțiuni hidrofobe (între resturile hidrofobe ale aminoacizilor).

Structura cuaternară este un mod superior de structurare al proteinelor și se referă la aranjamentul în spațiu al proteinelor care conțin două sau mai multe polipeptide cu participarea acelorași forțe care determină structura terțiară dar între catene diferite.

Având în vedere aceste nivele de structurare a proteinelor se clasifică în două mari clase: fibrilare și globulare.

1. Proteinele fibrilare sunt formate din lanțuri polipeptidice liniare, paralele care formează filamente sau foi; sunt insolubile în apă (proprietate datorată aminoacizilor hidrofobi prezenți într-un număr foarte mare) și intră în structura țesuturilor conjunctive. Exemple de astfel de proteine sunt: α -keratina (în piele, păr, unghii, coarne, copite, lână), collagenul (în tendoane, oase, piele, pereții vaselor de sânge, în țesutul conjunctiv alături de elastină și are o structură deosebită față de celelalte proteine: conține trei catene, fiecare urmând un model de helix care se rotește de la dreapta la stânga) și fibroina (produsă de insecte și păianjeni, se găsește în mătasea naturală și în pânza de păianjen, iar în structura ei predomină conformația β antiparalelă).

2. Proteinele globulare au o structură mult mai complexă decât a proteinelor fibroase, iar forma lor este, într-o oarecare măsură sferică, globulară. Prima proteină globulară a cărei structură tridimensională a fost determinată exact a fost mioglobina. Prezentă în mușchii scheletici și cardiaci, ea are rolul de a stoca oxigenul. Este o metaloproteină relativ mică, formată dintr-un singur lanț polipeptidic în interiorul căreia se află componenta neproteică pe bază de fier, hemul. Aceeași grupare hemică o înglobează și cele patru catene polipeptidice ale hemoglobinei: două catene de tip α și două de tip β . Rolul hemoglobinei este de a transporta oxigenul de la plămâni la țesuturi.

Denaturarea proteinelor

Proteinele își exercită funcțiile specifice în organism, în anumite condiții (temperatură, pH, concentrația de săruri). Schimbarea acestor parametri poate cauza, într-o oarecare măsură, modificarea activității lor, modificare datorată de obicei unor schimbări în structura proteinelor. Pierderea în structura tridimensională suficient încât să cauzeze pierderea funcției proteinei se numește denaturare. Printre factorii care contribuie la denaturarea proteinelor sunt: căldura, pH-urile extreme (modifică sarcina netă a proteinei cauzând repulsii electrostatice și distrugerea unor legături de hidrogen), unii solvenți organici (ex., alcoolii sau acetona), concentrații mari din unii compuși chimici (guanidina, ureea), sau detergenții. De cele mai multe ori, denaturarea este ireversibilă, un exemplu bun în acest sens fiind coagularea albuminei din albușul de ou prin fierbere.

Funcțiile proteinelor:

Cataliza enzimatică. Cele mai multe reacții din organism sunt catalizate de proteine specializate, numite enzime.

Rol regulator. Proteinele cu aceasta funcție sunt hormonii. Ei controlează căi metabolice prin reglarea nivelului unor anume metaboliți, procese sau stări. Astfel, insulina are rolul de a scădea concentrația de glucoză din sânge, tirotropina stimulează secreția glandei tiroide, etc.

Transport și stocare. Hemoglobina și mioglobina, sunt două proteine care au înglobate în partea proteică și o componentă neproteică, hemul, în centrul căreia se află Fe^{2+} legat la patru atomi de azot. Atomul de Fe face posibilă legarea oxigenului de către aceste proteine: Hb are rolul de a-l transporta la țesuturi, iar Mb de a-l stoca în mușchi. Pe lângă aceasta, Hb mai transportă produsul final al respirației, CO_2 , de la țesuturi la plămâni. Albumina este o altă proteină transportoare; se găsește în cantități mari în plasma sangvină și transportă hormoni, vitamine, medicamente, ioni de calciu și ajută la coagularea sângelui. Aquaporina este o proteină membranară care are rol de canal selectiv de apă; prin aceasta, aquaporina intervine în reglarea transferului de apă la nivelul rinichiului, tubului digestiv, creierului, glandelor salivare, vaselor de sânge, hematiilor, plămânilor și cristalinului.

Rol de depozitare. Exemple de proteine cu acest rol sunt cazeina, componentă proteică majoră din lapte, ovalbumina se găsește în ouă, zeina este proteina de rezervă din boabele de porumb, feritina ușurează acumularea ionilor de fier în splină.

Rol în coordonarea mișcărilor. Fie că vorbim de mișcarea macromoleculelor din interiorul celulelor, fie că vorbim de mișcarea organismului, oricare din aceste acțiuni sunt posibile prin activitatea unor proteine ca: miozina și actina. Aceste două proteine intră în componența mușchilor și determină contracția lor.

Rol structural. Proteinele structurale sunt reprezentate de proteinele care intră în structura membranelor biologice, a țesuturilor și organelor: α -keratina face parte din structura pielii, părului, unghiilor; coafarea părului se datorează proprietății keratinei de a se contracta. Colagenul se află în tendoane, oase, piele, pereții vaselor de sânge, în țesutul conjunctiv alături de elastina, iar fibroina, se găsește în mătasea naturală și în pânza de păianjen.

Rol de Apărare. Proteinele cu rol de apărare sunt implicate în diferite procese de apărare a organismului de anumiți factori externi. Cele mai studiate proteine sunt: anticorpii - proteine care formează complecși cu corpurile străine organismului, neutralizând materialul exogen; trombina participă la procesul de coagulare a sângelui; fibrinogenul este precursorul fibrinei, implicată tot în coagularea sângelui

Proteine exotice. O parte din ele se găsesc în diferite plante: monelina, brazeina, filodulcina au gust dulce și putere de îndulcire foarte ridicată, altele în animale (picioarele puricilor): resillina – proteină cu proprietăți elastice. Teste efectuate pe fâșii de rezilină artificiale au demonstrat că materialul poate fi întins până la de trei ori lungimea sa originală fără a se rupe.

Enzime

În funcție de reacțiile pe care le catalizează, enzimele au fost clasificate în 6 clase. Fiecare enzimă este înregistrată într-un catalog oficial cu un anumit număr, format din patru cifre și un nume sistematic ce include grupările implicate în reacția catalizată de enzima respectivă (spre exemplu lactat dehidrogenaza are numărul 1.1.1.27: face parte din clasa 1-clasa oxidoreductazelor, sub-clasa 1.1-grupa CH-OH ca și donor de electron, sub-sub-clasa 1.1.1-NaD(P)⁺ ca și acceptor de electron).

1. Oxidoreductaze - catalizează reacții cu transfer de electroni;
2. Transferaze - catalizează transferul de diferite grupări dintr-o moleculă;
3. Hidrolaze – asigură ruperea unor legături chimice folosind ca reactant apa;
4. Liaze – catalizează reacții de eliminare și adiție;
5. Izomerase - transferă grupări la dublele legături în vederea formării obținerii de compuși izomeri;
6. Ligaze (sintetaze) – catalizează reacții de condensare a două molecule.

Unele enzime folosesc la centrii activi/catalitici resturi de aminoacizi, altele folosesc un component chimic adițional. Partea proteică din enzimă se numește apo-enzimă sau apo-proteină, iar dacă coenzima, sau ionii metalici sunt legați covalent, partea neproteică se numește grupare prostetică. Exemple de enzime care folosesc aminoacizi ca și grupare funcțională sunt chimotripsina, pepsina, lizozimul, sau alcool dehidrogenaza; enzime care folosesc ioni metalici ca și cofactori sunt citocrom oxidaza, catalaza (Fe^{2+} sau Fe^{3+}), ceruloplasmina (Cu^{2+}), piruvat kinaza (K^{+}), ADN polimeraza, anhidraza carbonică, alcool dehidrogenaza (Zn^{2+}), glutation peroxidaza (Se); enzime care folosesc ca și grupare funcțională coenzime: piruvat dehidrogenaza (tiamin pirofosfat), alcool dehidrogenaza (nicotin adenin dinucleotid), acetyl-CoA carboxilaza (coenzima A), metilmalonil-CoA mutaza (vitamina B_{12})

Inhibiția enzimatică

Multe substanțe pot afecta procesele metabolice prin faptul că influențează activitatea enzimelor, micșorând activitatea lor. Inhibiția este un fenomen prin care un compus cu o structură asemănătoare substratului interacționează cu enzima, iar compusul rezultat nu poate genera produsul dorit. Inhibiția stă adeseori la baza funcționării a multor produse farmaceutice, și este normal aceasta, deoarece enzimele catalizează toate procesele celulare. Un exemplu este aspirina, care inhibă enzima ce catalizează primul pas în sinteza prostaglandinelor, compuși implicați în multe procese, inclusiv cel care produce durerea.

Există două tipuri de inhibitori: reversibili și ireversibili. Cei reversibili se leagă necovalent și nu cauzează schimbări permanente activității enzimei, pe când cei ireversibili se leagă covalent și modifică în totalitate ținta enzimei. Cel mai comun tip de inhibiție reversibilă este cea competitivă; are loc atunci când un inhibitor competitiv, concurează cu substratul pentru situsul activ al enzimei. Acest tip de inhibiție are semnificație și aplicație deosebită în controlul metabolic și efectul medicamentelor. Un exemplu de inhibiție competitivă, folosit în medicină este cazul pacienților care au înghițit metanol, un solvent folosit, spre exemplu în antigel. Enzima din ficat, alcool dehidrogenaza convertește metanolul într-o altă substanță (formaldehida) care provoacă probleme la vedere. Soluția este infuzia intravenoasă cu etanol, acesta devenind substrat pentru enzima respectivă.

Dacă inhibitorii nu concurează cu substratul pentru situsul activ al enzimei sunt fie pur noncompetitivi, fie noncompetitivi micști, iar în practică se întâlnesc numai pentru enzimele care au mai mult de două substraturi iar efectele lor nu pot fi înlăturate prin creșterea concentrației celui alt substrat. Inhibitorii pur noncompetitivi se leagă de enzime, într-un situs diferit de cel la care se leagă substratul.

Inhibiția ireversibilă are loc atunci când inhibitorii se leagă covalent la enzimă, distrugându-i gruparea funcțională necesară pentru activitatea ei. Un exemplu este cel al enzimei care acționează asupra dopaminei și serotoninei, micșorând nivelul lor în creier. Nivelul lor scăzut este asociat în medicină cu Parkinson-ul și depresia, iar pentru a le combate este folosit un medicament care acționează ca ‘distrugător’ pentru enzima respectivă.

De asemenea mai putem vorbi de inhibiție atunci când produsul rezultat interacționează cu enzima, caz în care se numește inhibiție de produs sau când, în amestecul de reacție este introdusă o concentrație prea mare de substrat, astfel încât are loc o scădere a vitezei de reacție, caz în care se numește inhibiție de substrat.

Activitatea catalitică a enzimelor poate fi modificată de anumiți compuși, care se leagă necovalent într-un situs diferit de cel activ, numit situs alosteric.

Precum s-a menționat, în reacția catalitică pot participa și grupări neproteice, numite cofactori. O parte mare din acești cofactori sunt formați prin modificarea unor substanțe esențiale, numite vitamine. Vitaminele nu pot fi sintetizate de către organism, însă prezența lor în corpul uman este necesară pentru realizarea unor funcții esențiale ale acestuia. În funcție de solubilitatea lor în apă, vitaminele se clasifică în două categorii: hidrosolubile și liposolubile. Din prima categorie fac parte: vitamina B₁ (tiamina, implicată în metabolismul glucidelor iar carența ei provoacă boala numită beri-beri), riboflavina (B₂, participă la reacții care servesc la prelucrarea glucidelor, lipidelor și proteinelor), acidul nicotinic (vitamina B₃), vitamina B₅ (coenzima A, pe bază de acid pantotenic, participă în toate căile metabolice ale organismului), vitamina B₆ (piridoxina, implicată în multiple reacții din organism), vitamina B₁₂ (cobalamina, cu rol important în funcționarea sistemului nervos, în sinteza ADN-ului și fierului în procesul de maturizare a globulelor roșii, etc. iar deficiența conduce la anemia pernicioasă), vitamina C

(antioxidant iar lipsa acesteia conduce la scorbut), acidul folic (participă la formarea hemului), biotina, acidul lipoic. În categoria vitaminelor liposolubile intră vitamina A (cu rol în vedere, creștere și dezvoltare), vitamina D (rol în reglarea circuitului calciului și fosforului), vitamina E (rol antioxidant), vitamina K (factor de coagulare).

Vitamina B₁ participă la reacții cheie ale căilor de transformare a glucidelor, prin faptul că intră în constituția enzimelor care catalizează decarboxilarea acidului piruvic și a cetoglutaratului în degradarea aerobă a glucidelor și în constituția unor enzime numite transcetolaze care participă la degradarea glucozei.

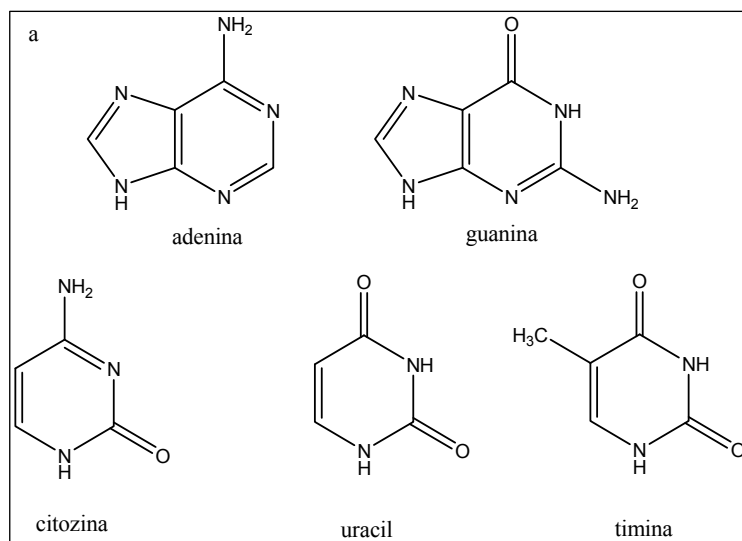
Vitamina B₂ odată absorbită în intestin este supusă unei reacții (de fosforilare) cu producerea formelor coenzimatice flavinmononucleotid (FMN) și flavinadeninucleotid (FAD) care intră în componența unor enzime din clasa oxidoreductazelor și realizează transportul hidrogenului în procesul de respirație celulară.

Vitamina B₆ este prezentă în natură sub trei forme și intră în compoziția unor enzime care catalizează reacții de transformare a aminoacizilor, cele mai importante fiind cele de decarboxilare și dezaminare.

Vitamina B₁₂ participă la două categorii de reacții biochimice: reacții de transmetilare prin intermediul cărora se sintetizează metionina și reacții de transformare care constau în transportul hidrogenului și formarea unei noi legături C-H. Foarte importantă este și participarea vitaminei B₁₂ la sinteza acizilor nucleici.

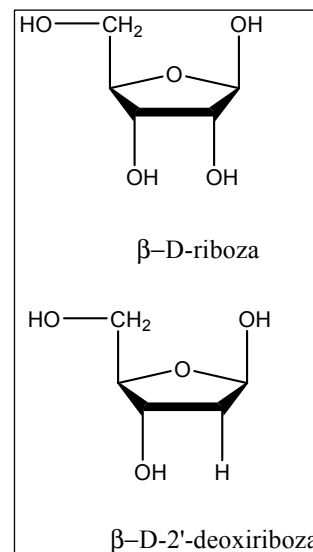
Anexa 5 – Acizi nucleici

În ADN și ARN gruparea 5'-fosfat a unei unități nucleotidice se poate lega de gruparea 3'-OH a următoarei nucleotide, formând o catenă liniară orientată în direcția 5-3'. Capătul 5' se termină cu un fosfat, iar capătul 3' cu un OH liber. În acest mod, se formează toate dinucleotidele, trinucleotidele și polinucleotidele. ADN-ul poate conține sute de milioane de astfel de nucleotide legate prin punți fosfodiesterice. Toate legăturile fosfodiesterice au aceeași orientare de-a lungul lanțului, dându-i, astfel, fiecărei catene liniare o anumită polaritate.



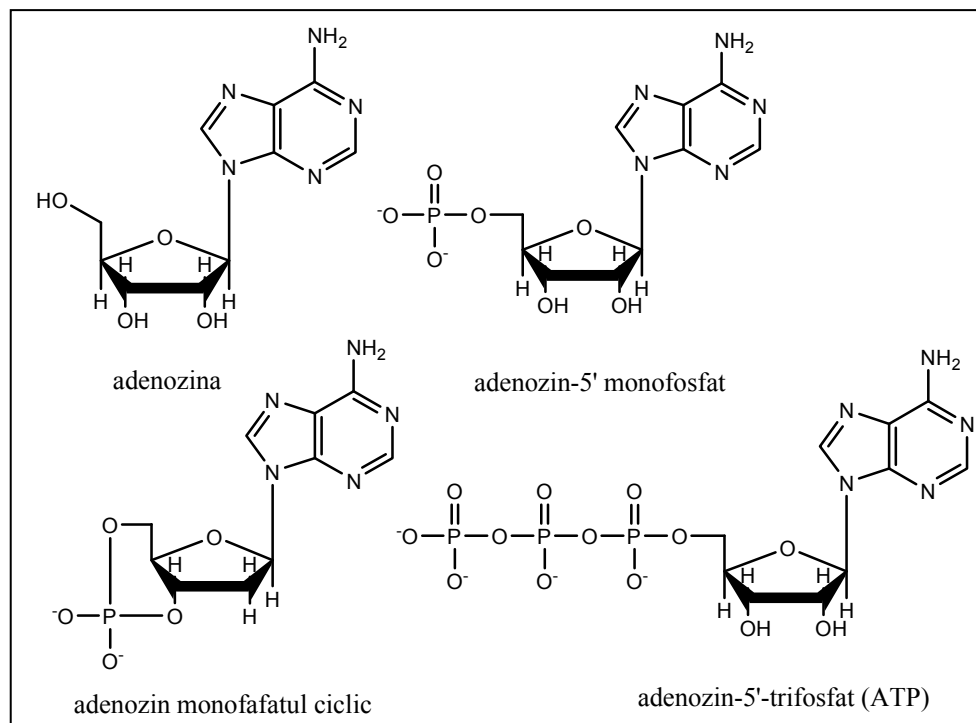
O secvență de aminoacizi, din orice proteină, corespunde unei secvențe nucleotidice specifice din ADN. Secvența din ADN care conține informația necesară pentru sinteza unei proteine se numește genă. O celulă are mii de gene, toate conținute în molecula de ADN.

O serie de macrocicluri aromatice, molecule hidrofobe de



grăsimi și nuclee heterociclice ca bromura de etidiu, acridina portocalie și actinomicina D se pot insera între bazele azotate ale ADN-ului, deformându-l – ceea ce le face să fie cunoscute și sub denumirea de agenți de intercalare.

ADN-ul uman apare sub forma cromozomilor, structuri bine împachetate cu ajutorul proteinelor histonice și non-



histonice. Astfel, structura liniară a ADN-ului celular, de aproximativ 2 m în lungime, se înfășoară în jurul unui octamer proteic format din histonele H₁, H₂A, H₂B, H₃ și H₄. Nucleozomii, la rândul lor, se grupează într-o structură de organizare superioară, solenoidul. Aceasta apare sub forma unui lanț de mărgel, având 6 nucleozomi/tur. Aceste filamente formează bucle, 18 bucle aranjându-se radiar sub forma unei minibenzi.

Capetele cromozomilor eucarioti prezintă secvențe de nucleotide repetate în tandem (în cazul cromozomului uman: TTAGGG repetat de 1000-1700 de ori) denumite telomeri. Rolul lor este de a păstra integritatea cromozomială și de a proteja ADN-ul împotriva rearanjării și degradării. După fiecare ciclu celular, aceste structuri se scurtează datorită pierderii de nucleotide, astfel, ADN-ul devine din ce în ce mai scurt, pierzându-și integritatea, acest fapt fiind o parte a procesului de îmbătrânire.

ARN-ul celular diferă mult în structură, mărime și durată de viață. Marea majoritate este reprezentată de ARN-ul ribozomal, component al ribozomului. Acesta este compus din două subunități diferite ca mărime, alcătuite din ARN și proteine, în a căror asociere, un rol important îl are concentrația ionilor de Mg.

ARNm este sintetizat în timpul fazei de tranziție pe baza unei catene de ADN nuclear și servește la transportul informației genetice, din nucleu în citoplasmă – acolo unde ea este citită de ribozom. Și celelalte forme de ARN sunt sintetizate în aceeași manieră pe baza ADN-ului, dar numai secvențele din ADN care codifică proteine sunt transcrise în molecula de ARN. La procariote, o singură moleculă de ARN conține informația pentru sinteza a mai multe lanțuri polipeptidice. În schimb, ARNm eucariot codifică numai o proteină, dar procesul este mult mai complex, pentru că prezintă și segmente cărora le lipsește capacitatea de a codifica proteine, denumite introni, în alternanță cu exonii, segmentele care conțin informație. De obicei, durata timpului de viață este scurtă, el fiind distrus imediat după îndeplinirea rolului său.

ARNt funcționează în timpul translației, ca un liant între acizii nucleici și proteine. Conține aproximativ 70-90 de nucleotide, recunoaște codonii (trei baze succesive formează un codon) specifici din ARNm cu anticodonii lui și transportă aminoacizii corespunzători fiecărui codon, din citosol până la locul sintezei catenei polipeptidice (ribozom). Fiecare din cei 20 de aminoacizi care intră în alcătuirea proteinelor are cel puțin o specie de ARNt care îl aduce la ribozom, unde va fi adăugat lanțului polipeptidic în formare. Unii aminoacizi pot fi conduși în acest fel de către mai mulți ARNt. De exemplu, în cazul leucinei, 5 molecule diferite de ARNt servesc acestui scop.

Stabilitatea acizilor nucleici este afectată de o serie de factori care conduc la alterarea sa. Aceste modificări pot fi atât pozitive, cum este separarea catenelor înaintea fazei de replicare și transcripție cât și negative, asociate cu apariția bolii și a cancerului.

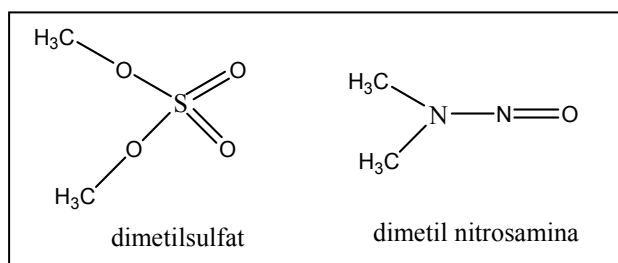
Separarea catenelor ADN-ului poate fi determinată de creșterea temperaturii, modificarea pH-ului și a tăriei ionice. Dacă acești factori sunt îndepărtați, acizii nucleici se pot renatura, formând structura dublu-catenară. Această proprietate stă la baza formării hibrizilor ADN-ADN, ADN-ARN, ARN-ARN. Tehnica hibridizării este folosită în genetica moleculară modernă, pentru detectarea secvențelor similare de ADN de la diverse specii sau din genomul aceleiași specii. Aplicarea acestei tehnologii poate face posibilă identificarea unui individ pe baza unui singur fir de păr rămas la locul crimei sau pe baza ei se poate prezice cu câteva decenii înainte, apariția unei boli. Asocierea ADN-ARN are însă și aplicații în medicină.

Modificarea structurii covalente ale bazelor purinice și pirimidinice este o altă modalitate prin care structura ADN-ului este alterată. Acest fapt produce schimbări permanente în informația genetică codificată, acestea sunt cunoscute sub numele de mutații, iar acumularea lor este asociată cu apariția bolii și a cancerului.

Unele nucleotide pierd, în mod spontan, grupările amino exociclice (dezaminare), transformându-se în alte baze. De exemplu, în anumite condiții celulare, citozina se poate transforma în uracil sau adenina în guanină. În cazul ADN-ului, uracilul este privit ca străin și este îndepărtat de către sistemul reparator. Dacă ADN-ul ar conține uracil în loc de timină, recunoașterea uracilului produs ca urmare a dezaminării citozinei ar fi mult mai dificilă, acest fapt ducând la schimbări permanente și în secvența catenei nou sintetizate.

Toate formele de viață sunt expuse energiei bogată în radiații, capabilă să cauzeze schimbări chimice în ADN. Radiațiile UV, de exemplu, pot produce dimeri pirimidinici și alte modificări chimice ale ADN-ului bacterian sau al celui din pielea omului.

O serie de reactivi chimici, rezultați în urma activităților industriale pot, de asemenea, produce distrugerii ale ADN-ului. Un potențial accelerator al dezaminării bazelor este HNO_2 sau bisulfitul. Datorită acestei caracteristici, acești compuși chimici sunt folosiți în conservarea alimentelor. O altă categorie este cea a agenților alchilanți, capabili de a metila bazele purinice.



Cea mai importantă sursă a alterării mutagenetice este stresul oxidativ. Speciile reactive de oxigen cum sunt (apa oxigenată, ionul hidroxil și superoxidul) sunt responsabili pentru cele mai multe oxidări ale ADN-ului.

Principala funcție a replicării ADN-ului este asigurarea unui transfer fidel al informației genetice de la celula parentală la celulele fiice. Acest proces este complex și implică multe funcții celulare și mecanisme de reparare. În celula de *E. coli* sunt implicate în jur de 30 de proteine, iar în cazul celulei eucariote, complexitatea procesului este mult mai mare. Replicarea este semi-conservativă, în sensul că fiecare catenă a ADN-ului servește drept matriță pentru formarea unei noi catene. Astfel, la sfârșitul acestei faze, cromozomii vor conține o catenă veche, provenită de la celula parentală și una nou sintetizată pe baza acesteia.

Molecula de ARNm nu are în ea însăși o afinitate față de aminoacizi, prin urmare, traducerea informației genetice de pe o moleculă de ARNm într-o secvență de aminoacizi necesită prezența unei molecule adaptor. Această moleculă trebuie să recunoască o secvență specifică de ARN pe de o parte, iar pe de altă parte, trebuie să recunoască un aminoacid specific. Cu ajutorul unei astfel de molecule, celula poate să-și direcționeze aminoacizii în poziția potrivită din secvența unei proteine, în condițiile în care grupările funcționale ale aminoacizilor nu vin de fapt în contact cu matrița de ARNm.

Pentru sinteza celor 20 de aminoacizi care intră în alcătuirea proteinelor este nevoie de cel puțin 20 de codoni care să alcătuiască codul genetic. Fiecare aminoacid este codificat de câte o unitate formată din trei nucleotide, numită codon; având la dispoziție patru nucleotide, codul genetic conține 64 de codoni. Unii codoni au funcții specifice. Codonul inițial AUG este cel mai comun semnal pentru începerea lanțului polipeptidic în celulă, pe lângă faptul că el codifică și aminoacidul metionină aflat într-o poziție internă a lanțului. Codonii terminali, denumiți adesea codonii stop sau non-sens, sunt semnale pentru întreruperea sintezei lanțului polipeptidic și nu codifică nici un aminoacid. Odată ce citirea ARN de către ribozom a început la un anumit codon specific, mesajul este citit fără punctuație, într-o secvență continuă de triplete nucleotidice, până când se ajunge la codonii stop.

	U		C		A		G	
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Stop
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

O altă trăsătură a codului genetic este dată de faptul că un aminoacid poate fi specificat de mai mulți codoni, deci, codul genetic, este degenerat. Totodată, el este neambiguu, fiecare codon codifică numai un singur aminoacid. Această trăsătură nu este uniformă; în timp ce metionina și triptofanul au un singur codon, de exemplu, trei aminoacizi (Arg, Leu, Ser) au șase codoni, cinci aminoacizi au patru, izoleucina are trei, și nouă aminoacizi au doi codoni.

Codul genetic este universal. Cu câteva excepții (unele variații minore la nivelul mitocondriei, bacteriilor și unele eucariote unicelulare), codonii sunt identici la toate speciile.

Datorită faptului că sinteza proteinelor este o funcție centrală în fiziologia celulară, ea reprezintă o țintă principală a multor antibiotice și toxine. Puromicina din mucegaiul *Streptomyces alboniger* are o structură similară cu capătul unui aminoacid-tARN, ceea ce îi permite să interfere cu activitatea ribozomului. Tetraciclina inhibă sinteza proteinelor la bacterii prin blocarea accesului aminoacil-ARNt la ribozom. Cloramfenicolul blochează formarea de legături între aminoacizi numai în cazul bacteriilor, nu și a eucariotelor, iar streptomicina cauzează o citire defectuoasă a codului genetic (la bacterii) la concentrații mici, în timp ce la concentrații mari inhibă inițierea procesului.

Organismele se adaptează la schimbările mediului prin reglarea activității genetice. Din totalul de gene (aproximativ 4000 la bacterii și 29000 la om), numai o fracție se exprimă în celulă, la un moment dat. Unii produși ai genelor se găsesc, în celule, într-o concentrație foarte mare (de exemplu, factorul de elongare necesar sintezei proteinelor sau ribulozo-1,5-bifosfat carboxilaza de la plante și de la bacteriile fotosintetice), în timp ce altele, se găsesc în cantități foarte mici. Necesarul de produși ai genelor (proteine, enzime) se schimbă, în timp, în funcție de nevoile metabolice ale organismelor, în funcție de etapa dezvoltării, etc.

Reglarea exprimării genelor este influențată de hormoni, metale grele și diferite substanțe chimice. Molecula care va induce creșterea exprimării genetice se numește activator, în timp ce un efector care va inhiba exprimarea, se numește represor.

Genele reacționează în trei moduri la un semnal inductor. În unele situații, cum sunt cele induse la eucariote de un hormon, un nutrient sau un factor de creștere, exprimarea este

dependentă de prezența stimulului. În alte cazuri, răspunsul este tranzitoriu, chiar dacă stimulul persistă; în altele poate să mai apară chiar dacă acesta este îndepărtat, și se poate chiar transmite ca atare celulelor fiice.

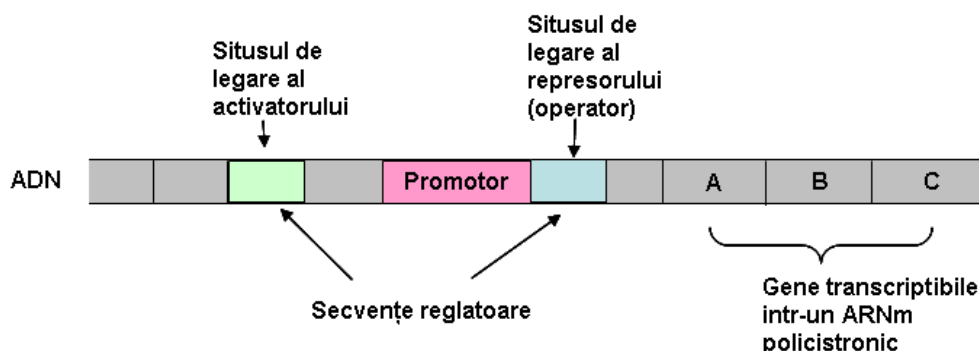
împreună

Adesea pe ADN sunt codificate, adiacent una față de alta, proteine ale căror funcții sunt interdependente; mai mult, înaintea lor există și porțiuni numite promotori, care anunță începutul unei regiuni care necesită citirea, și operatori – porțiuni de ADN a căror funcție este să interacționeze cu proteine-regulator (inductori, represori). Ansamblul format din una sau mai multe gene, și promotorii și operatorii dedicați lor, alcătuiește un „operon”.

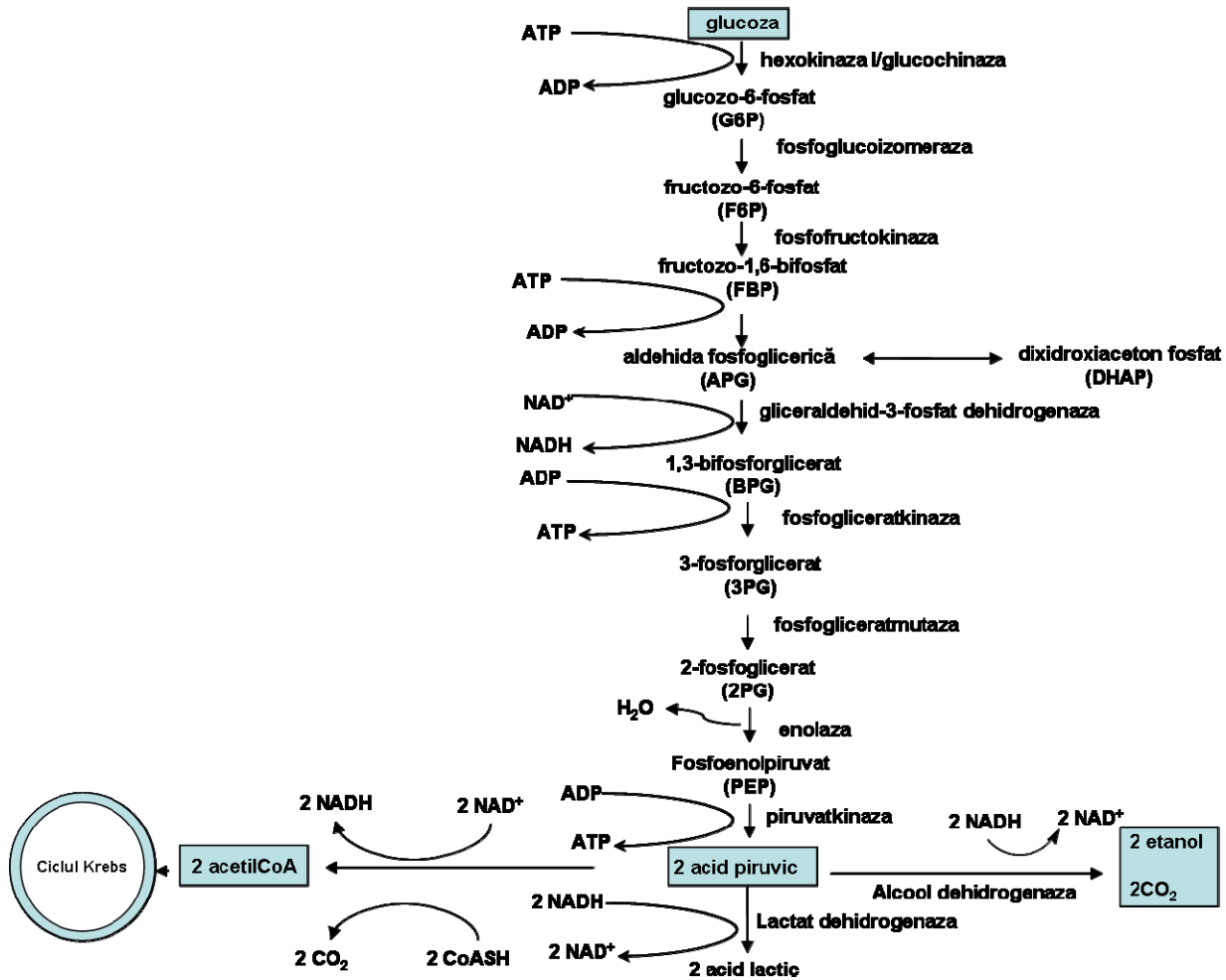
Operonul *lac* de la bacterii include gene necesare pentru introducerea în celulă a

lactozei și pentru transformarea ei în glucide mai comune. Dacă în mediul bacteriei respective se găsește atât glucoză, cât și lactoză, exprimarea operatorului *lac* este inhibată. Suplimentar, în lipsa lactozei operonul *lac* este inhibat de un represor *lac*, o moleculă produs al unei gene din cadrul aceluiași operon. Când în celulă pătrunde lactoza, o moleculă semnal inductoare se leagă de un situs specific al represorului, cauzându-i schimbări conformaționale, care vor determina disocierea acestuia de pe operator.

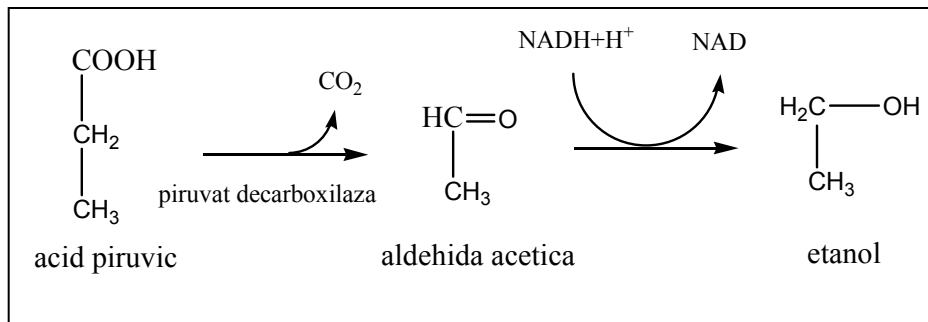
Un alt exemplu bine-cunoscut de reglare genică este cel al operonului *trp*, implicat în sinteza triptofanului. Când triptofanul se află în cantitate abundentă în celulă, el se leagă de o moleculă represor, căruia îi va modifica starea conformațională și o va face capabil să se lege de operonul *trp* și să blocheze atașarea ARN polimerazei de acesta.



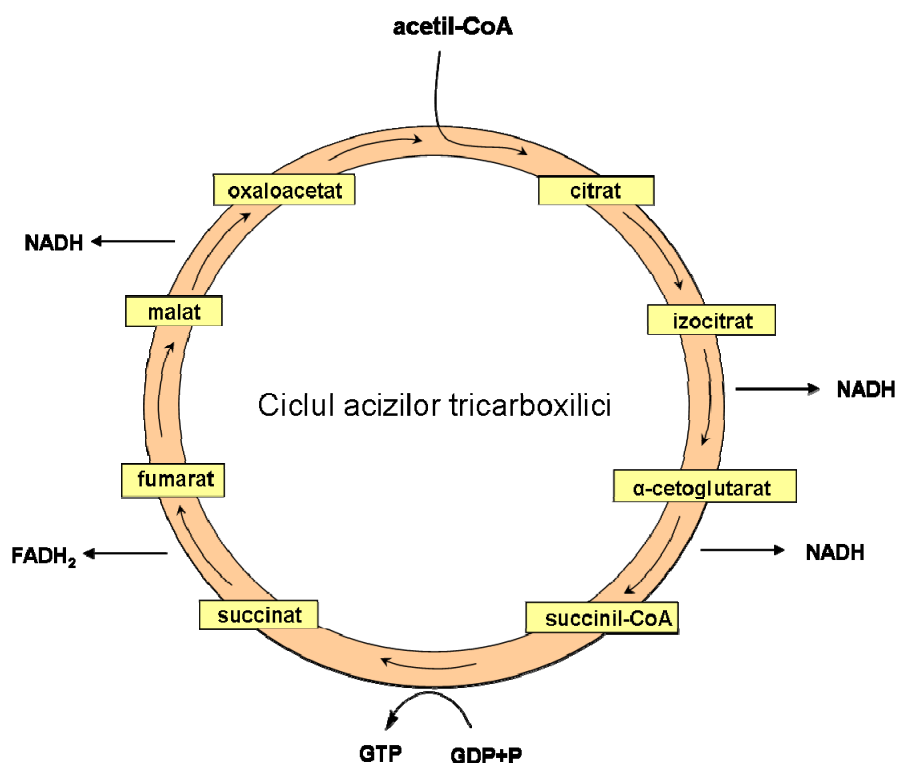
Anexa 6 - Metabolism



Ciclul Krebs constă într-o serie de reacții de oxidoreducere, care rezultă în transformarea unei grupări acetil în două molecule de CO₂. Un compus cu patru atomi de carbon (oxaloacetatul) este condensat cu o grupare acetil, formând o unitate de acid carboxilic cu șase atomi de carbon (citratul). Un izomer al acestuia este mai apoi, decarboxilat, obținându-se un compus cu 5 atomi de carbon (α -cetoglutarat), care va fi la rândul său decarboxilat, obținându-se un compus cu patru atomi de carbon (succinatul). Oxaloacetatul este apoi regenerat din succinat. Oxaloacetatul funcționează ca o moleculă catalitică. El participă la oxidarea grupării acetil, dar este regenerat. O singură moleculă de oxaloacetat este capabilă să participe la oxidarea a multor molecule acetil.

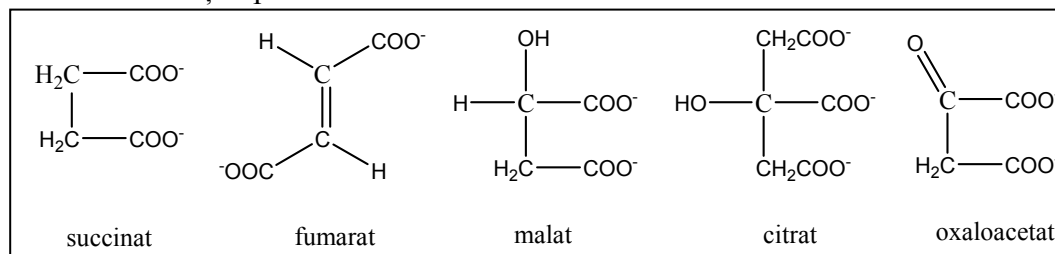


În acest mod, în ciclul Krebs, intră doi atomi de carbon sub forma grupării acetyl și ies două molecule de CO_2 ; șase electroni sunt transferați la trei molecule de NAD^+ iar o pereche de atomi de hidrogen (doi electroni) sunt transferați moleculei de FAD^+ . De reținut este faptul că ciclul Krebs, în sine, nu generează o cantitate mare de ATP și nici nu folosește oxigenul din aer ca reactant. De fapt, ciclul Krebs îndepărtează electronii de pe molecula de acetyl CoA, cu formarea



agenților reductori FADH_2 și NADH . În continuare, prin fosforilarea oxidativă, electronii eliberați prin reoxidarea NADH și FADH_2 străbat o serie de proteine membranare (lanțul transportor de electroni), generând un gradient de protoni în membrana mitocondrială, care stă la baza funcționării ATP sintazei și a producerii ATP-ului.

Astfel, cuplarea celor două procese (ciclul Krebs și fosforilarea oxidativă)



oferă marea majoritate de energie folosită de organismele aerobe—în organismul uman, mai mult de 95%.

În urma glicolizei, a ciclului Krebs și a oxidării acizilor grași, rezultă NADH și FADH_2 , molecule bogate în energie, care conțin câte o pereche de electroni cu un potențial ridicat. Cantitatea ridicată de energie eliberată prin reducerea, cu ajutorul acestor electroni, a O_2 la apă, servește la generarea ATP-ului. Fosforilarea oxidativă este un proces prin care se generează ATP, ca rezultat al transferului de electroni de la NADH sau FADH_2 la O_2 , printr-o serie de purtători de electroni. Acest proces se desfășoară în mitocondrie și reprezintă sursa majoritară de energie la organismele aerobe.

Pe parcursul proceselor de oxidoreducere care se desfășoară de-a lungul lanțului transportor de electroni, se produc, inevitabil, specii reactive de oxigen (superoxid, peroxid, hidroxil), a căror acțiune este contracarată de existența unor enzime specializate pentru descompunerea acestora (superoxid dismutaza, catalaza, peroxidaza).

Sinteza ATP-ului este catalizată de un complex enzimatic, ATP-sintaza, care în prezența ADP-ului și a P_i , formează ATP. Acest complex este format din mai multe subunități proteice, grupate în unitatea F_1 , care se proiectează în matrixul mitocondrial și care conține mecanismul fosforilării. Această subunitate este atașată de un alt complex proteic, cunoscut sub numele de F_0 , care este ancorat în membrană și care prezintă un canal pentru protoni. Scurgerea protonilor prin F_0 cauzează rotația acestuia, conducând la producerea ATP-ului în complexul F_1 . Este estimat că pentru oxidarea fiecărui NADH oxidat, se vor forma trei molecule de ATP, iar pentru fiecare $FADH_2$ oxidat, se vor forma două molecule de ATP.

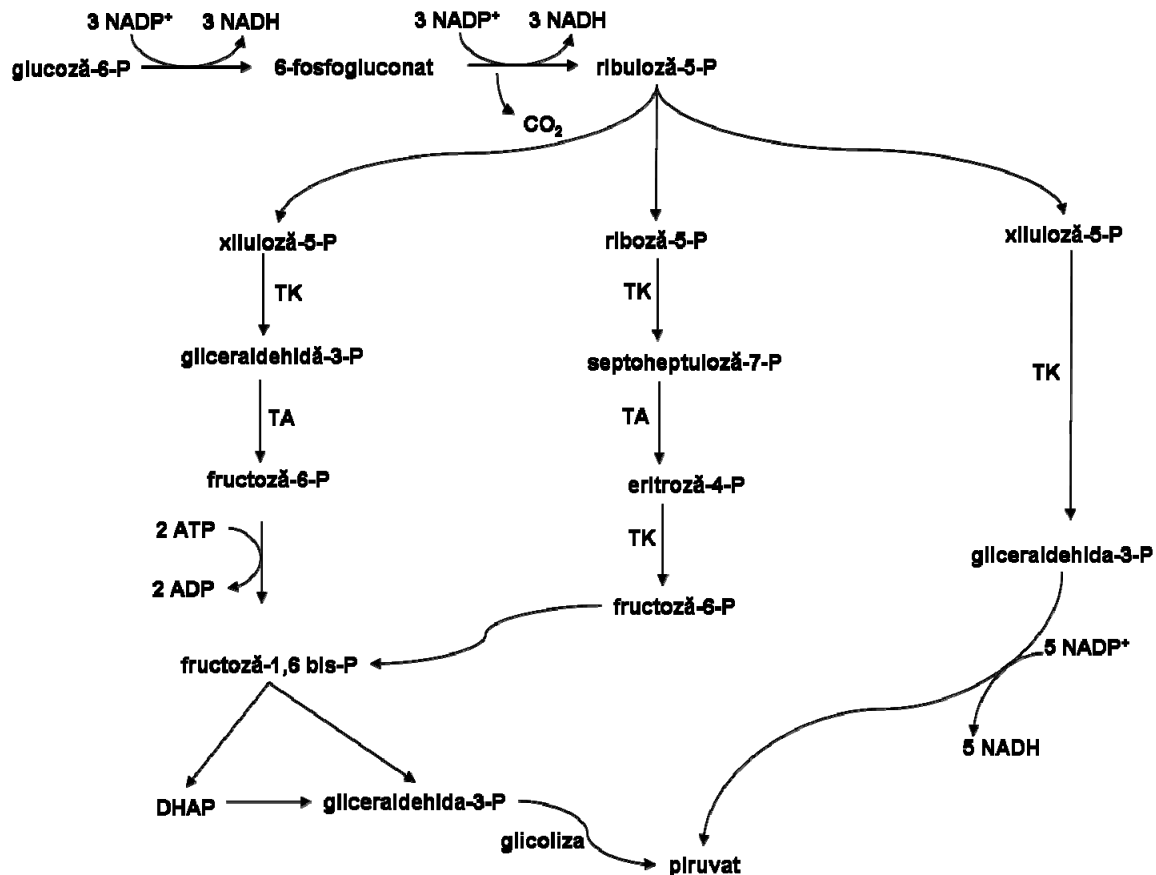
Aceste considerente permit calculul energiei rezultate sub forma moleculei de ATP, prin oxidarea unei molecule de glucoză:

- Din glicoliză rezultă două molecule de ATP și 2 NADH
- Din două cicluri Krebs (pentru cele două molecule de acid piruvic formate din glucoză) se formează 8 NADH, 2 FADH₂ și 2 GTP (corespunde ATP-ului)

Prin însumare:

$$3 \text{ ATP} + 10 \text{ NADH} + 2 \text{ ATP} + \text{FADH}_2 + 2 \text{ ATP} + 2 \text{ GTP} = 38 \text{ ATP/glucoză consumată}$$

Comparând această energie cu cea înmagazinată în urma glicolizei (două molecule de ATP) se pot, cu ușurință, constata avantajele enorme ale metabolismului aerobic, desfășurat în medii bine oxigenate.

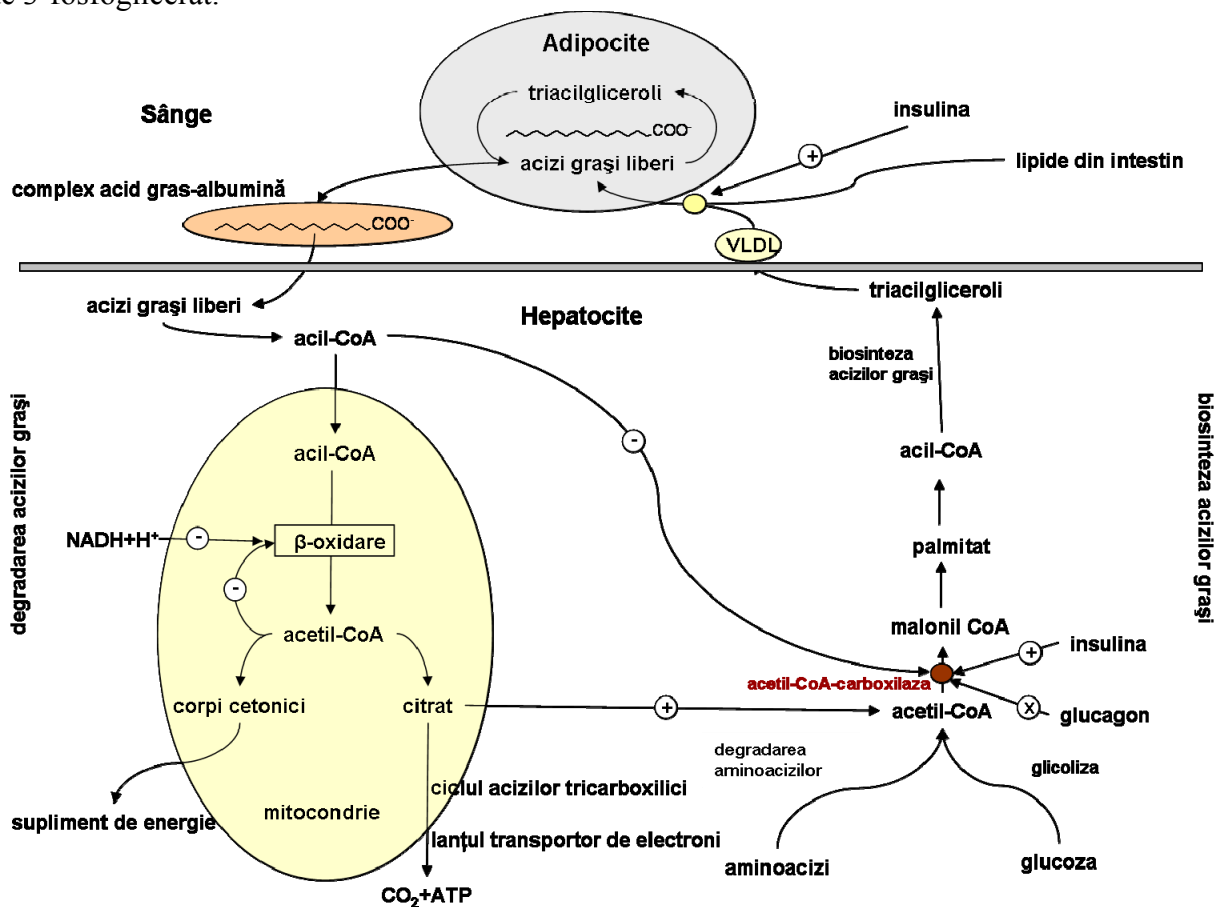


O altă cale oxidativă a glucozei este reprezentată de cea a acidului uronic, care se produce la nivelul ficatului, dar care la fel ca în cazul celei descrise mai sus, nu produce ATP, ci glucuronat, precursorul direct al ascorbatului, în cazul animalelor capabile să sintetizeze această

vitamină. La om, acidul ascorbic nu poate fi sintetizat, datorita lipsei unei enzime importante în biosinteza acestuia (*L-gulonolactone oxidase*).

Fructoza este metabolizată prin glicoliză la nivelul ficatului mult mai rapid decât glucoza, deoarece ea ocolește pasul reglator catalizat de fosfofructokinază. Metabolizarea glucozei conduce la accentuarea sintezei acizilor grași și a esterificării acestora, creșterea secreției de VLDL, urmată implicit de creșterea colesterolului LDL și a triacilglicerolilor . În celelalte țesuturi, glucoza inhibă metabolizarea fructozei, atâta timp cât ea reprezintă un substrat mai bun pentru hexokinaze.

NADPH și ATP obținuți în timpul fazei inițiale a fotosintezei („faza de lumină”) sunt utilizați, mai apoi, pentru fixarea CO₂ într-un compus organic, în faza de întuneric, cunoscută sub denumirea de ciclul Calvin. Rubisco (ribulozo bifosfat carboxilaza/oxigenaza), cea mai abundentă enzimă de pe Pământ, transformă ribulozo 1,5-bifosfat, CO₂ și apa în două molecule de 3-fosfoglicerat.

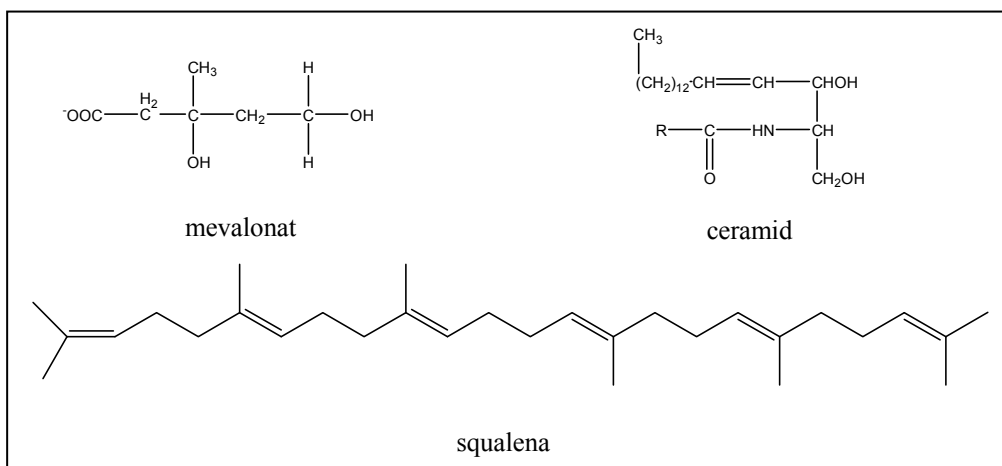
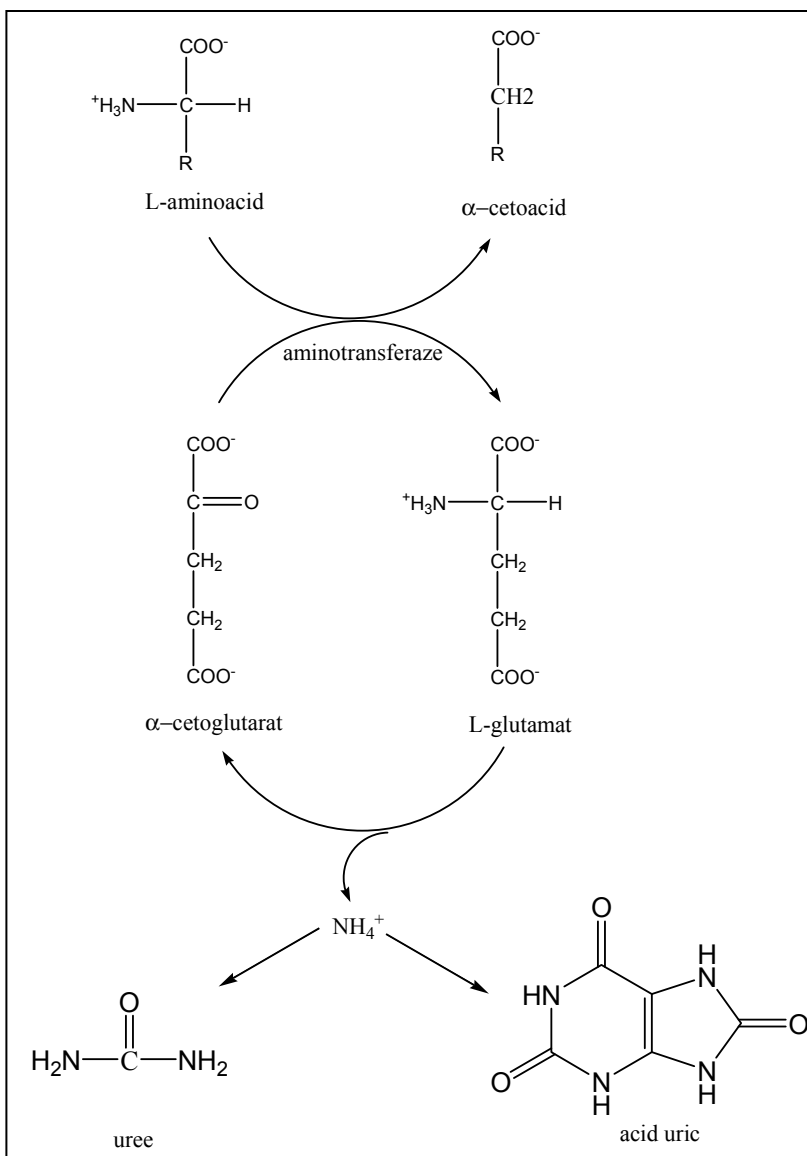


Pentru obținerea energiei, lipidele trebuie să fie, mai întâi, mobilizate din depozitele țesuturilor adipoase. În acest proces, triacilglicerolii sunt degradați la acizi grași și glicerol, în procesul de lipoliză, catalizat enzimatic de către lipaze, enzime aflate sub control hormonal (adrenalina, glucagonul, insulina, etc). Mai apoi, moleculele de acil CoA rezultate prin activarea acizilor grași, prin legarea coenzimei, trebuie să fie transportate în mitocondrie cu ajutorul unui sistem transportor(carnitina). Degradarea acizilor grași se desfășoară în matrixul mitocondrial, printr-un proces oxidativ ciclic, în care unități de câte doi atomi de carbon sunt în mod succesiv clivate până la acetil CoA. Înaintea eliberării grupării acetil, fiecare grupare CH_2 de la C_3 al acil CoA este oxidată, rezultând o grupare cetonică, de aici denumirea procesului, de β -oxidare.

Acetil CoA produs

poate să fie oxidat la CO_2 în ciclul Krebs sau poate să fie transformat, la nivelul ficatului, în corpi cetonici (acetoacetat, 3-hidroxibutirat, acetonă) care servesc ca surse de energie majoritară,

pentru unele țesuturi. Acest ultim traseu este urmat în momentul în care există un dezechilibru



între cantitatea ridicată de acetyl CoA produsă prin β -oxidare și cantitatea insuficientă de oxaloacetat necesară introducerii acestuia în ciclul Krebs, pentru formarea de citrat.

Când procesul oxidativ a ajuns la final, o moleculă de acid palmitic (C_{16}), de exemplu, produce aproximativ 106 molecule de ATP, corespunzătoare unei energii de 3300 kJ/mol. Această cantitate ridicată de energie face din grăsimi un depozit ideal pentru energia metabolică. Animalele hibernante, cum sunt urșii polari, își asigură rezervele energetice necesare pentru 6 luni, numai prin degradarea lipidelor.

Oxidarea acizilor grași nesaturați necesită unele etape suplimentare (catalizate de o izomerază și o reductază). De asemenea, în cazul acizilor grași cu un număr impar de atomi de carbon produsul final al oxidării este propionil CoA, care necesită transformarea într-o formă utilizabilă, printr-o serie de reacții enzimatice adiționale.

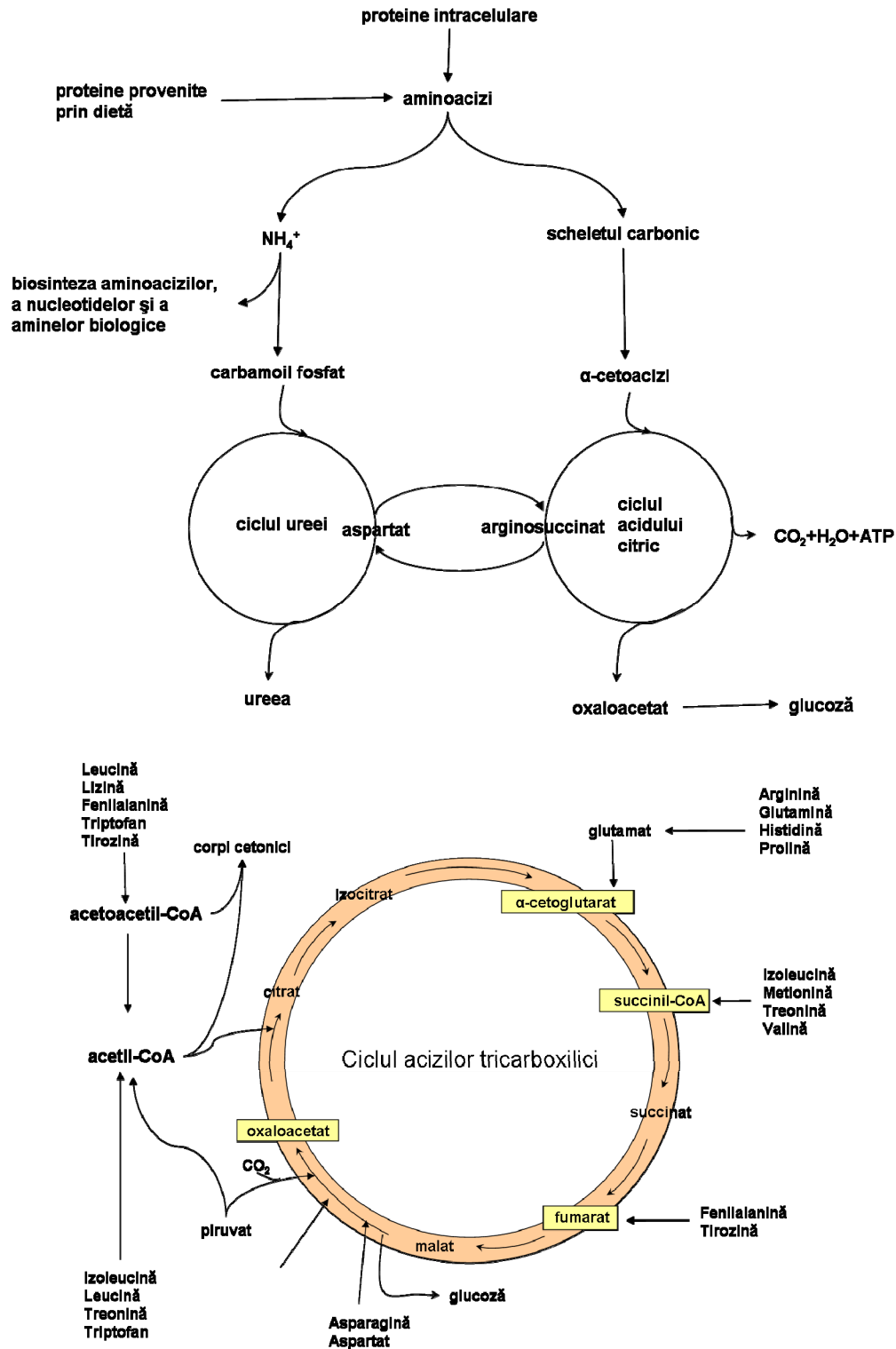
Biosinteza acizilor grași are loc în citoplasmă sub cataliza a două enzime cheie: acetyl-CoA carboxilaza și acid gras-sintetaza. Primul pas constă în obținerea malonil CoA prin carboxilarea acetyl CoA, sub acțiunea carboxilazei. La rândul său, acid gras-sintetaza un complex multi-enzimatic al unui singur lanț polipeptidic cu șapte activități enzimatice, începe sinteza cu o singură moleculă de acetyl și adaugă rând pe rând câte o grupare malonil, în șapte reacții ciclice, până când se formează palmitatul (16:0). În fiecare ciclu este eliminată o moleculă de CO_2 . Astfel, lanțul acizilor grași crește prin adăugarea unei unități de câte doi atomi de carbon, la fiecare ciclu. $NADPH+H^+$ este utilizat ca agent reducător și provine în principal din calea pentozo-fosfaților. Acizii grași nesaturați și cei cu un număr mai mare de atomi de carbon se sintetizează din palmitat în etapele următoare.

În final, grăsimile sunt sintetizate din acizi grași activați (acyl CoA) și glicerol 3-fosfat. Pentru a ajunge la țesuturile periferice, grăsimile sunt împachetate de către hepatocite în complexe lipoproteice, de tipul VLDL, care vor fi eliberate în sânge.

Lipogeneza este reglată în pasul catalizat de acetyl-CoA carboxilază, prin modificări alosterice, fosforilare, defosforilare sau inducere și represie a sintezei enzimei. Citratul activează această enzimă iar un lanț lung de acyl-CoA îi inhibă activitatea. Insulina activează acetyl-CoA carboxilaza, pe când glucagonul și adrenalina au o acțiune opusă.

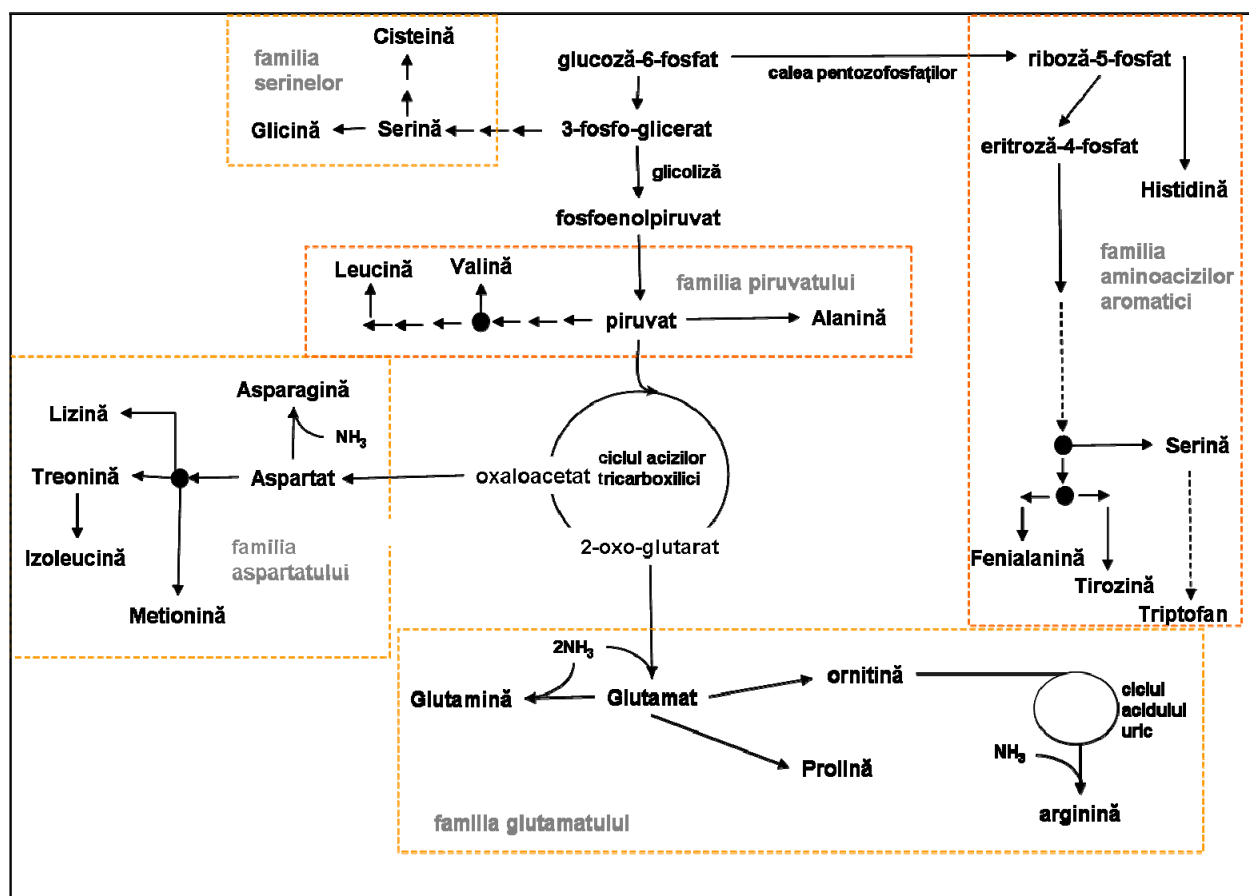
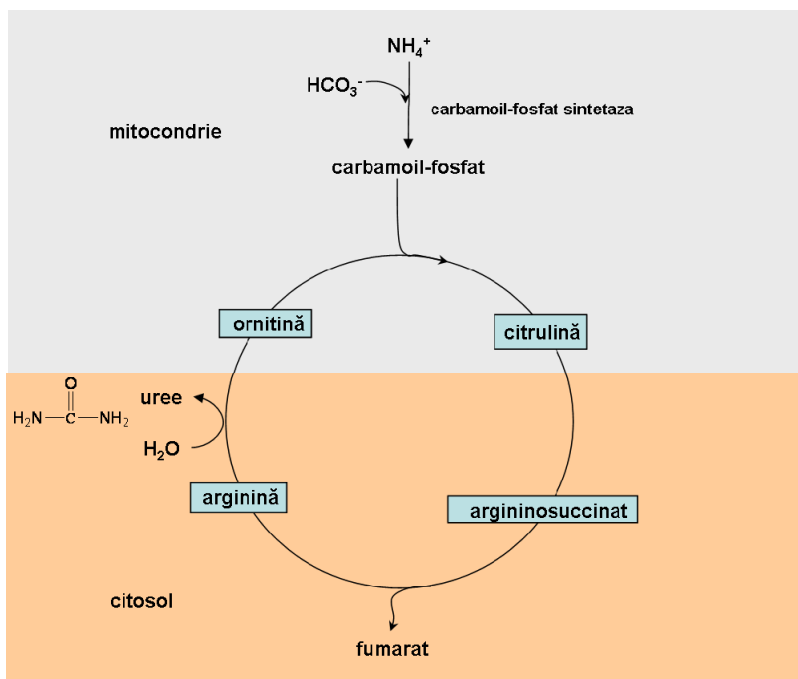
Colesterolul este un component important al membranei celulare și, totodată, precursorul hormonilor steroizi (glucocorticoizi, mineralocorticoizi și hormoni sexuali) și ai acizilor biliari. Necesarul organismului animal provine prin biosinteză endogenă, cealaltă jumătate provine din dietă. Cei 27 atomi de carbon ai colesterolului se adaugă prin mai multe etape, din acetyl CoA (acetat). Ultimul pas constă în ciclizarea squalenelor, izoprenoide liniare cu 30 de atomi de carbon. Sinteza colesterolului are loc sub control hormonal și este inhibată de concentrații ridicate ale colesterolului intracelular.

Scheletul carbonic (α -cetoacid) rezultat în urma dezaminării va suferi modificări ulterioare care vor duce la obținerea unor precursori ai glucozei și intermediari ai acidului citric. Cinci dintre acești metaboliți (2-oxo-glutarat, succinil CoA, fumarat, oxaloacetat și piruvat) sunt precursori ai gluconeogenezei, primii patru fiind intermediari ai ciclului Krebs. Cu două excepții (lizina și leucina) toți aminoacizii sunt glucogenici. Doi produși adiționali ai degradării (acetoacetatul și acetyl CoA), nu pot intra în calea gluconeogenetică, dar pot fi folosiți pentru sinteza corpurilor cetonică, ai acizilor grași și ai izoprenoidelor. Unii aminoacizi (fenilalanina, triptofanul, izoleucina) sunt atât glucogenici, cât și cetogenici.



NH_3 este o bază tare, care se prezintă la pH fiziologic sub forma ionului NH_4^+ . Ambele forme sunt toxice, provocând la concentrații ridicate afecțiuni, în special, ale creierului. Din acest motiv, organismul prezintă mecanisme prin care amoniacul este inactivat și excretat. Astfel, amoniacul este transformat în uree, în ciclul uric, care se desfășoară numai la nivelul ficatului, cu debut în mitocondrie și finalizare în citosol. Fumaratul produs în etapa citosolică este transformat

în ciclul Krebs în oxaloacetat, care prin transaminare se transformă în aspartat, un intermediar al ciclului acidului uric și, totodată, un precursor al ureei. Astfel, cele două cicluri sunt interconectate.



Anexa 7 - Nutriție

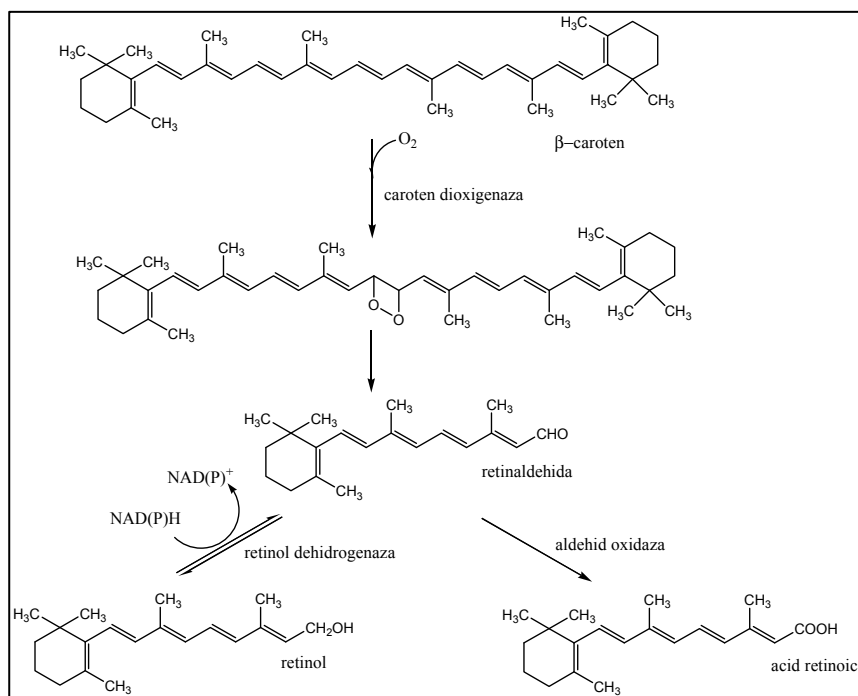
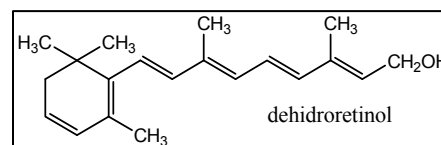
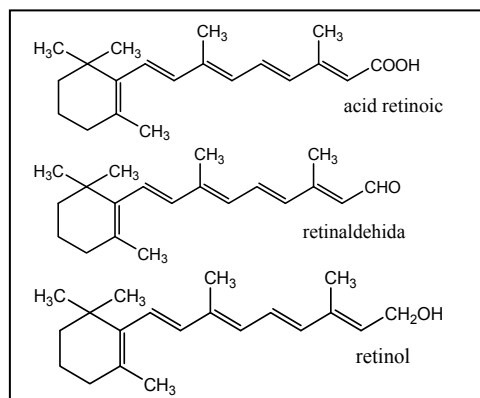
Vitamina A. Retinoide și carotenoide.

Formele fiziologic active ale vitaminei A sunt retinalul și acidul retinoic - ambii fiind compuși derivați din retinol. Retinaldehida este grupare prostetică a opsidei o proteină membranară cu rol în traducerea luminii receptate de pigmentii vizuali și inițierea unui impuls nervos. Acidul retinoic modulează expresia genelor și diferențierea țesuturilor fiind esențial pentru creșterea și menținerea normală a epitelilor și mucoaselor. De asemenea vitamina A are rolul de transportor al unităților manozil în sinteza glicoproteinelor hidrofobe și retinolarea proteinelor. Termenul de vitamina A include și retinolul sau carotenoidele din care se sintetizează.

În țesuturi sau alimente, deoarece este puțin stabil, retinolul liber se găsește în cantități reduse, fiind în esterificat majoritatea cazurilor cu acidul palmitic. În pești și amfibieni se găsește dehidroretinolul (Vitamina A₂) care are activitatea biologică de două ori mai mică decât retinolul.

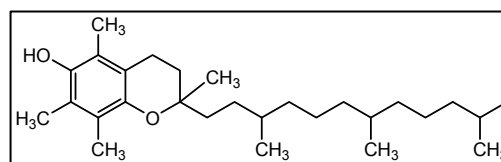
Unele carotenoide precum β-carotenul, luteina, zeaxantina, licopenul sau β-criptoxantina au o importanță nutrițională deosebită deoarece spre deosebire de retinol sunt prezenți în alimente în cantități mari.

Intoxicațiile acute cu vitamina A produc greață, amețeli, dureri de cap, somnolență și exfolierea pielii, simptome care dispar după câteva zile. Intoxicațiile cronice afectează sistemul nervos central, ficatul (hiperlipidimii, hepatomegalii), oasele (hipercalcemii, dureri, calcifierea țesuturilor moi, osteoporoza).



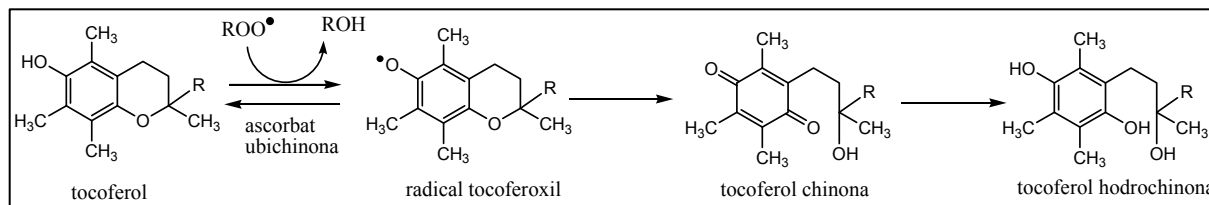
Vitamina E

Vitamina E este localizat în principal în membrane având funcție principală de agent antioxidant. Independent de activitatea anti-oxidantă α-



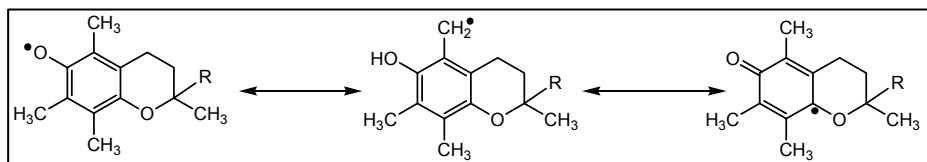
tocoferolul este implicat în semnalizarea celulară, inhibarea sau inactivarea protein chinazei C, modularea expresiei genelor și inhibarea proliferării celulelor.

În reacție cu radicalii liberi vitamina E este oxidată până la chinonă care este ulterior redusă și conjugată cu acid gluconic pentru a fi excretată în bilă.



Acizii grași polinesaturați sunt supuși atacurilor speciilor foarte reactive ale oxigenului (peroxid, superoxid) formând specii radicalice capabile la rândul lor de reacții de oxidare declanșând un lanț de reacții de oxidare cu consecințe grave asupra celulelor. Vitamina E captează electronii formând radicalul tocoferoxil care este stabilizat prin rezonanță și întrerupe lanțul de reacții. Prin proprietățile anti-oxidante vitamina E are activitate hipolipemiantă, antiateriosclerotică.

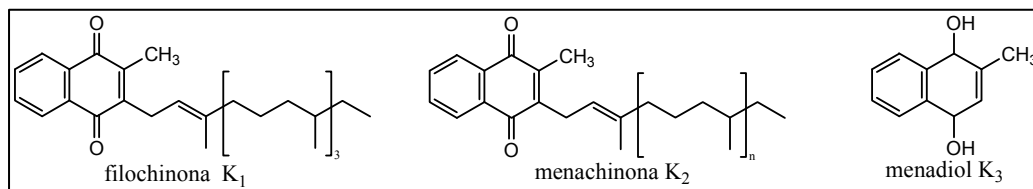
În cazul prematurilor rezervele de vitamina E în țesuturi este insuficientă, lipsa de tocoferol poate progresa spre hemoliză sau anemie hemolitică datorită scăderii timpului de viață al eritrocitelor.



Vitamina K

Vitamina K este disponibilă în trei forme - filochinona (din plante), menachinonele (sintetizate de bacteriile din intestin) și menadoilul (obținut prin sinteză chimică).

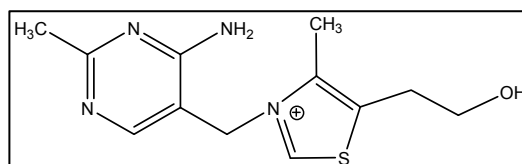
Principala funcție a vitaminei K este carboxilarea în poziție gama a



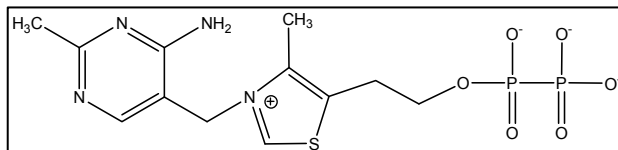
resturilor de glutamat din proteine precum protrombina și factorii de coagulare VII, IX și X; rolul γ -carboxiglutamatului proteinele implicate în coagulare este de a chelata ionii de calciu, inducând în acest mod o schimbare conformațională a acestora care va permite legarea lor de fosfolipidele membranare. Proteine care conțin γ -carboxiglutamat se află și în spațiul intermembranar al mitocondriilor unde au rol în acumularea calciului, în oase sau în sistemul nervos. Vitamina K activează de asemenea serin palmitoiltransferaza o enzimă implicată în sinteza fosfosfingolipidelor.

Vitamina B₁ – Tiamina

Tiamin-pirofosfatul (TPP) este forma metabolic activă a tiaminei având rol de coenzimă în reacțiile de decarboxilare oxidativă a oxoacizilor în metabolismul glucidelor și a unor aminoacizi (ex.

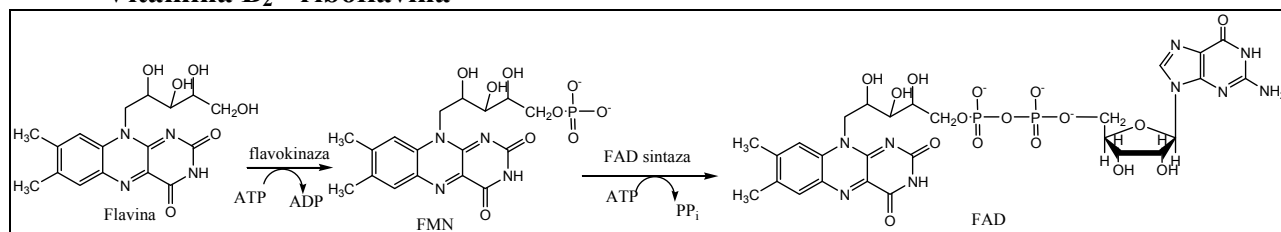


leucină, izoleucină, valină). De asemenea TPP-ul este implicat în reacțiile catalizate de transcetolaze (pe calea pentozofosfaților) și transmiterea impulsului nervos prin activarea acetilcolinei.



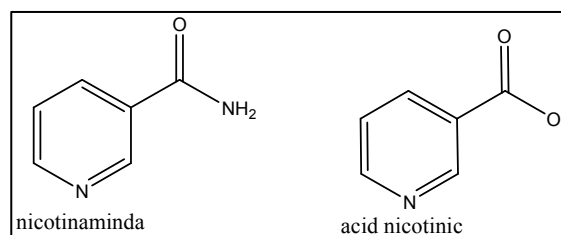
Tiamin-trifosfatul este implicat în reglarea transportului transmembranal al clorurii prin activează canalele ionice din membranele celulelor țesutului nervos.

Vitamina B₂ - riboflavina



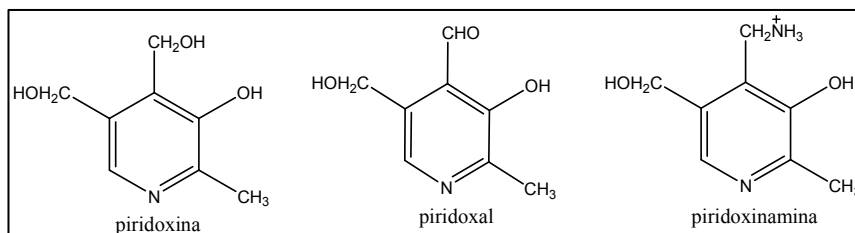
Vitamina PP - Niacina

Termenul de niacină se referă atât la nicotinamidă cât și la acidul nicotinic, ambele substanțe având aceeași activitate biologică.



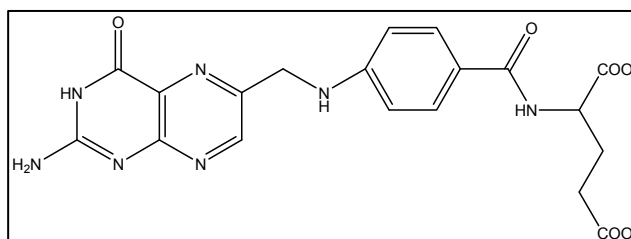
Vitamina B₆ – Piridoxalul

Termenul de vitamina B₆ se referă la 6 vitameri inter-convertibili între ei - piridoxina, piridoxalul, piridoxinamina și derivații lor fosfați în poziție 5' dintre care forma metabolic activă este piridoxal-fosfatul.



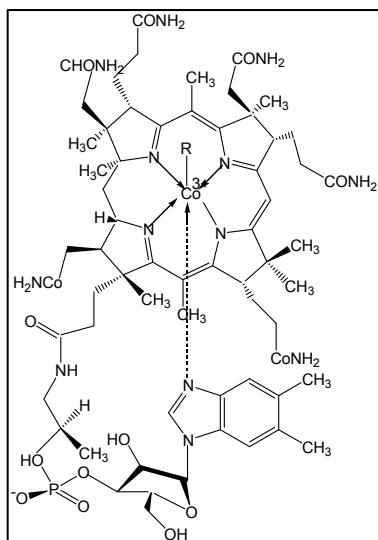
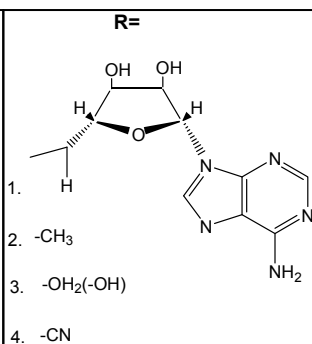
Vitamina B₉ - Acidul folic

Acidul folic este esențial în sinteza purinei și pirimidinei și implicat în sinteza ADN-ului, intervine în maturarea celulelor stem din măduva osoasă fiind important în formarea eritrocitelor. Rolul acidului folic este transferul grupărilor conținând un atom de carbon (ex. formil, metil) atât în reacții catabolice cât și de biosinteză.

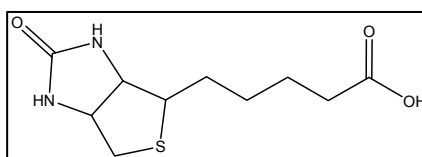
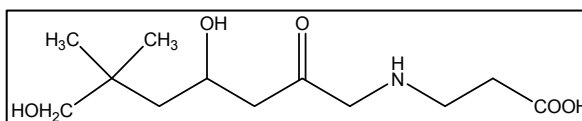


Vitamina B₁₂

Vitamina B₁₂ are cinci vitameri biologic activi: cianocobalamina, hidroxicobalamina, aquacobalamina, metilcobalamina și adenzilcobalamina. Starea de oxidare a cobaltului în vitameri este 3+, excepție adenzilcobalamina unde este 1+.

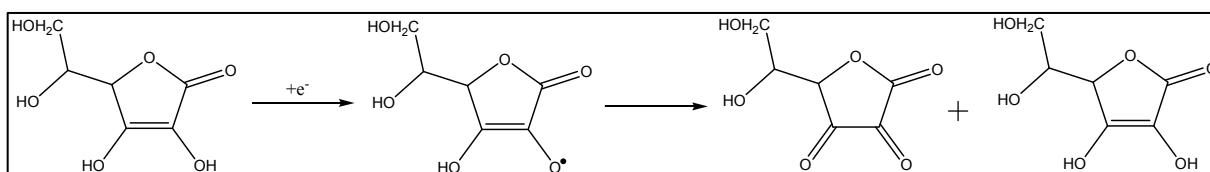
**Biotina (Vitamina H)**

Vitamina B₁₂ este coenzimă pentru metilmalonil-CoA mutaza (catalizează reacția de izomerizare a metilmalonil-CoA la succinil-CoA), metioninsintaza (realizează transferul unei grupări metil de la metil-tetrahidrofolat la homocisteină) și leucin aminomutaza (catalizează izomerizarea leuceinei la β-leucină).

**Acidul pantotenic (Vitamina B₅)****Vitamina C (Acidul ascorbic)**

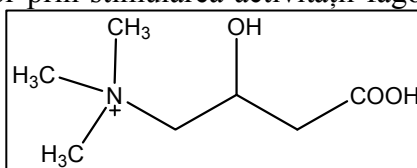
Acidul ascorbic are rol bine definit în două clase de hidroxilaze și anume hidroxilazele cu cupru și cele care conțin fier legat de 2-ceto-glutarat. Pe lângă funcția de cofactor, vitamina C este implicată în reglarea expresiei genelor care codifică proteine ale țesutului conjunctiv, citocromul P₄₅₀ și ubichinona, în absorbția intestinală a fierului non-heminic acționând ca agent antioxidant și chelatat pentru ionul Fe²⁺.

Ascorbatul reduce ionii de Fe³⁺, Cu²⁺ și reacționează specii reactive ale oxigenului ca superoxidul și radicalul hidroxil formând radicalul monohidroascorbat care disproporționează rapid la ascorbat și dehidroascorbat.



Ascorbatul reacționează cu azotitul împiedicând formarea nitrozaminelor, compuși cu potențial cancerigen.

Doze ridicate de vitamina C este consumate în perioadele reci cu scopul de a preveni răceala, însă studiile arată că acidul ascorbic nu are efect în prevenirea infecțiilor ci doar în reducerea duratei simptomelor prin stimularea activității fagocitelor, deci scăderea răspunsului inflamator.

**Carnitina****Fierul**

În organism se află 50-70 mmoli de fier, din care ¾ intră în constituția hemului (pigmentul din hemoglobină, dar și din alte proteine mai puțin abundente), restul fiind stocat în

țesuturi, legat de proteine de stocare precum feritina și hemosiderina; din totalul fierului mai puțin de 1% este aflat în plasmă legat de transferină. Metabolismul fierului este reglat la nivel hormonal prin intermediul hepcidinei, un hormon alcătuit dintr-un lanț de 25 de aminoacizi, sintetizat în ficat.

Explorarea metabolismului fierului se realizează prin următoarele analize:

Determinarea fierului seric - valorile normale pentru un adult sunt 18-45 $\mu\text{mol/l}$ la bărbați și 14-32 $\mu\text{mol/l}$ la femei.

Capacitatea totală de legare a fierului este o metodă indirectă de măsurare a concentrației transferinei. La o persoană sănătoasă transferina este saturată cu fier în procent de 30%, însă în cazuri de deficiență de fier saturația scade sub 15 %. Capacitatea de legare a fierului crește în cazul deficiențelor de fier (sarcină, anemie), hemoragiilor, policitemiei și scade la excesul de fier, bolilor inflamatorii cronice, talasemiei, cancerului, artritei reumatoide, sindromului nefrotic.

Feritina serică este cel mai bun indicator al rezervelor de fier din organism. Valorile normale sunt cuprinse între 15-200 $\mu\text{g/l}$ la bărbați și 12-150 $\mu\text{g/l}$, fiind mai ridicate în fazele acute ale infecțiilor, leziunilor sau bolilor maligne, cazuri în care diagnosticarea deficienței de fier pe acesta cale devine problematică. Valorile $< 20 \mu\text{g/l}$ indică deficiența de fier înainte ca anemia feriprivă să fie instalată. Concentrațiile $> 500 \mu\text{g/l}$ sunt indicatori ai talasemiei și leucemiei

Concentrația *protoporfirinei eritrocitare libere* este în general mai mică de 1 μmol per litru de celule roșii.

Legate de fier sunt și hematosideroza, hematocromatoza, și porfiria.

Anexa 8 - Sistemul imunitar

Apărarea nespecifică a organismului este ereditară și include bariere mecanice (ex. mucoasele, epiderma), fizico-chimice (ex., aciditatea sucului gastric), celulare, substanțe antibacteriene (lizozimul, imunoglobulinele) sau tranzitul intestinal (prin eliminarea agenților patogeni).

Apărarea specifică sau adaptativă este dezvoltată pe parcursul vieții unui individ ca urmare a răspunsului imun al organismului expus la diferite substanțe străine, fiind susținută de complexe celulare.

Sistemul celular este alcătuit din diferite tipuri de leucocite (ex. macrofage, limfocite) provenite din celulele stem ale măduvei osoase hematogene, care sunt diferențiate și maturate în diferite țesuturi.

Limfocitele sunt celule care recunosc specific antigenul în cadrul răspunsului imun reprezentând 20-40 % din totalul leucocitelor. Din punct de vedere morfologic limfocitele sunt clasificate în limfocite mici, din care fac parte limfocitele B (maturate în timus) și limfocitele T (maturate în măduva hematogenă), și limfocite mari din care fac parte celulele NK (natural killer) și LAK (lymphokine-activated killer).

Limfocitele B reprezintă aproximativ 20% din limfocitele circulante. Acestea prezintă la suprafața celulelor receptori cu rol în recunoașterea antigenelor, activarea limfocitelor B și receptori de adeziune intercelulară.

Limfocitele T îndeplinesc mai multe funcții printre care recunoașterea celulelor infectate și liza acestora (realizată de limfocitele citotoxice, T_c), interacțiunea cu macrofagele și reglarea răspunsului imun prin secreția citochinelor (realizată de limfocitele Th („helper”).

Citochinele sunt substanțe care stimulează proliferarea celulelor B și activitatea limfocitelor T_c și Th. Interferonii sunt o clasă de citochine, a căror sinteză este indusă de diferiți agenți chimici sau biologici și ale căror rol principal este inducerea stării antivirale; interferonii intervin în activități nespecifice precum inhibiția multiplicării celulelor normale și tumorale, reglarea funcției imunitare și a proceselor de diferențiere celulară.

Celulele NK (natural killer) reprezintă circa 15% din totalul limfocitelor sanguine. Celulele NK au pe suprafața unii markeri caracteristici limfocitelor însă nici unul din receptorii de antigen caracteristici limfocitelor T sau B, îndeplinindu-și rolul imunologic prin recunoașterea modificărilor complexelor de histocompatibilitate. Funcția celulelor NK este de a liza anumite celule tumorale și celule infectate cu virusuri, fiind de asemenea active în respingerea grefelor și a celulelor modificate.

Detectarea antigenilor este mediată de două clase de complexe proteice de histocompatibilitate (CMH I și CMH II) care leagă fragmentele peptidice ale proteinelor lizate în celulă și le expune la suprafața acestora, astfel încât fragmentele străine (ex. provenite de la virusuri) să poată fi recunoscute de receptorii antigenici.

Proteinele aparținând CMH I se află la suprafața majorității celulelor organismului (exceptând eritrocitele, endoteliul corneean, celulele exocrine ale pancreasului, neuronii, endoteliile capilarelor) și leagă peptidele provenite din degradarea proteolitică a oricărei proteine din celulă, iar complexe formate sunt țintele receptorilor limfocitelor citotoxice. Pentru a evita atacarea celulelor proprii organismului în timus sunt selectate și maturate doar acele limfocite care recunosc complexul CMH I-peptidă non-self. Această clasă de proteine este importantă în menținerea homeostaziei biochimice a organismului fiind atacate de sistemul imunitar dacă au

suferit mutații, s-au asociat cu antigene virale sau tumorale sau aparțin unor țesuturi grefate care poartă molecule incompatibile.

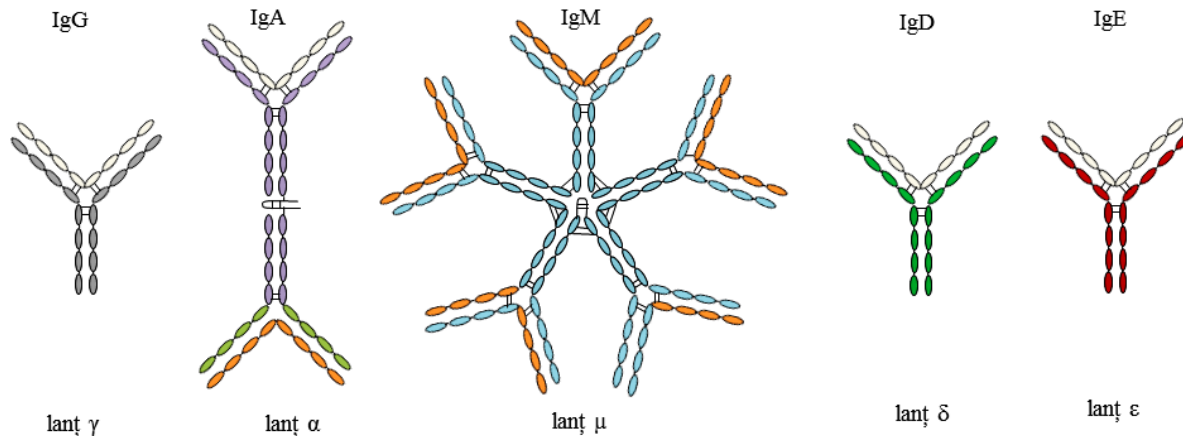
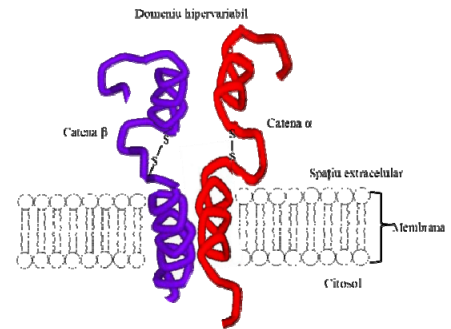
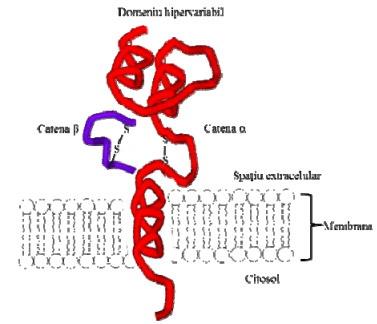
Complexele de histocompatibilitate din clasa II se află la suprafața unor celule specializate implicate în răspunsul imun precum limfocitele B, eozine, celule dendritice și macrofage. Aceste proteine leagă fragmente peptidice derivate din proteine exogene ca cele ale capsidului virusurilor sau cele bacteriene. Complecșii formați sunt recunoscuți de receptori ai limfocitelor Th.

Erorile de selecție ale limfocitelor în timus provoacă apariția bolilor autoimune precum diabetul zaharat de tip I, artrita reumatoidă sau scleroza multiplă.

Anticorpuri

Anticorpuri sau imunoglobulinele sunt proteine plasmatiche sau membranare specializate în recunoașterea și să inactivarea substanțelor străine organismului numite antigene. Ele sunt sintetizate în limfocitele B (pentru inserția în membrana) și plasmocite ca răspuns la stimuli specifici ca urmare a pătrunderii unor molecule exogene în organism. Există o gamă foarte variată de imunoglobuline, având în vedere că pentru fiecare epitop (determinant antigenic) este sintetizată o proteină specifică; acestea se clasifică în cinci clase: IgG, IgA, IgM, IgD și IgE.

Anticorpuri sunt alcătuite din subunități identice conținând fiecare câte o catenă polipeptidică H (heavy=greu) γ , α , μ , δ , ϵ și una L (light=ușor (κ , λ)) legate între ele prin punți di-sulfurice. Pentru fiecare anticorp la nivelul structurii primare se disting două regiuni: constantă



(C) și variabilă (V). Regiunea C, localizată spre capătul C-terminal, conține aceeași secvență de aminoacizi pentru toate imunoglobulinele, asigurând integritatea structurală și funcțională a acestora. Regiunea V cuprinde aprox. 110 aminoacizi din capătul N-terminal care variază complementar cu antigenul determinând specificitatea imunoglobulinelor. În cadrul acestei

regiuni variabile există secvențe în care variabilitatea este maximă numite regiuni hipervariabile sau regiuni determinante de complementaritate (RDC) față de configurația epitopului.

Imunoglobulinele conțin și o regiune flexibilă, bogată în cisteină, localizată în apropierea mijlocului catenei H, numită regiunea balama, care permite ajustarea geometriei acestora. Această regiune este susceptibilă atacului proteazelor (ex. papaina).

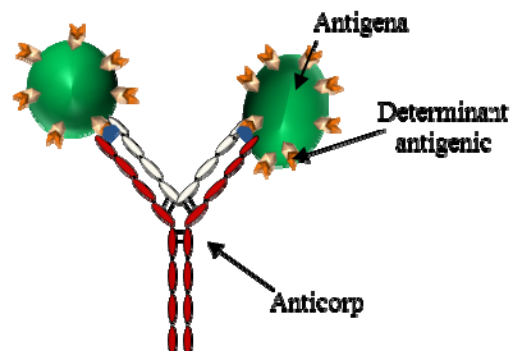
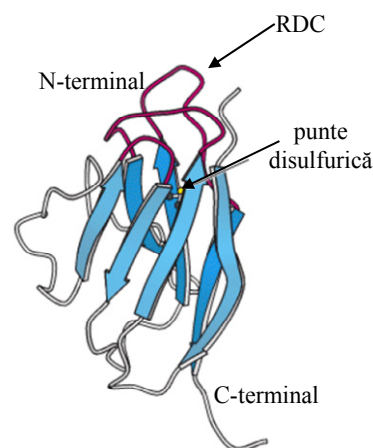
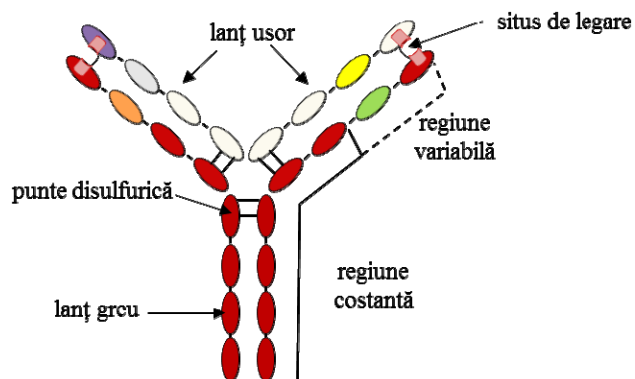
Antigenul este definit generic drept o substanță de origine endogenă sau exogenă care nu este recunoscută ca componentă proprie și determină apariția unui răspuns imun. Un antigen este alcătuit dintr-o componentă cu masă mare numită purtător sau „carrier” și una cu masă mică localizată pe suprafața purtătorului care se combină cu situsul activ al anticorpului, determină specificitatea antigenică și individualitatea moleculei străine denumite *epitopi* sau *determinante de specificitate*.

Există substanțe cu masă moleculară mică, care atașate o moleculă purtător, de obicei de o proteină, dobândesc proprietăți antigenice putând provoca apariția unui răspuns imun. Aceste molecule se numesc *haptene*.

Imunogenul este o moleculă în stare nativă care are capacitatea de a stimula un răspuns imun, fără a fi necesară combinarea acesteia cu o altă moleculă.

Legătura între anticorpi și antigen este de natură non-covalentă, tăria acesteia fiind dependentă de de gradul și tipurile de interacțiuni realizate, complexul format fiind în echilibru cu componentele libere. Specificitatea legăturii anticorp-antigen este determinată de resturile de aminoacizi din domeniile variabile ale anticorpului și este realizată prin complementaritatea între situsul de legare al anticorpului și antigen în ceea ce privește aranjamentul spațial, sarcinile totale parțiale, polaritatea și posibilitatea formării legăturilor de hidrogen. Atât în structura anticorpului cât și a antigenului pot avea loc schimbări conformaționale care să faciliteze o interacțiune cât mai bună între cele două componente.

Testele ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) sunt utilizate pentru „screening-ul” și cuantificarea prezenței unui antigen în probe. Proteinele din probă sunt fixate pe o suprafață inertă care este ulterior spălată cu soluția unei proteine nespecifice (ex. cazeină) și tratată cu anticorpul de interes. Anticorpii nelegați sunt îndepărtați, iar proba este tratată cu un complex enzimă-anticorp care recunoaște anticorpul de interes și este capabil de a cataliza reacții din care rezultă produși colorați. Se adaugă substratul pentru enzima legată de anticorpul secundar și se monitorizează cantitatea de produși formată.





ISBN: 978-973-595-817-6